VOLUME 1 1957 N° 1

ANNALES
DE L'
INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI

NOUVELLE SÉRIE



KIPHISSIA-ATHÈNES
GRÈCE



ANNALES
DE L'
INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI

NOUVELLE SÉRIE

VOLUME 1



KIPHISSIA-ATHÈNES
GRÈCE
1957

ANNALES
DE L'
INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI
NOUVELLE SÉRIE

VOLUME 1 1957 N° 1

RECHERCHES SUR L'INTERFÉRENCE ENTRE LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC ET LE VIRUS X DE LA POMME DE TERRE DANS LE CAS DE LA MALADIE COMPLEXE DE LA TOMATE (STREAK)

RELATIONS ENTRE L'ACTIVITÉ DE CERTAINS SYSTÈMES OXYDASIQUES ET LA MULTIPLICATION DES DEUX VIRUS [1, 2, 3]

PAR

D. G. ZACHOS

SOMMAIRE

---

[1] Travail executé à l'Institut National de la Recherche Agronomique, Station Centrale de Pathologie Végétale. Versailles.

[2] Ce mémoire constitue la Thèse de Doctorat ès sciences agronomiques soutenue par D. G. Zachos le 13 mars 1957 devant l'École de Hautes Études Agronomiques d'Athènes.

[3] Reçu pour publication le 7 mars 1957.

INTRODUCTION

L'infection de l'hôte par un virus déterminé peut influencer l'installation ou la multiplication d'un autre virus dans les tissus. Ceci constitue le phénomène d'interférence.

Quand il s'agit de souches d'un même virus l'interférence se caractérise, presque toujours, par une prémunition croisée.

Dans le cas des virus non apparentés le phénomène varie et revêt des aspects différents. Il y a d'abord des cas où l'on constate un antagonisme entre les virus agissant sur la même plante. L'antagonisme se manifeste par l'inhibition de la multiplication de l'un des virus ou le remplacement de l'un par l'autre même si le premier se trouve déjà installé et suffisament développé. Par contre, il y a d'autres cas dans lesquels on observe une action synergique des deux virus manifestée soit par une augmentation de la concentration de l'un d'eux soit par l'apparition d'une maladie présentant des symptômes nouveaux, en plus des ceux qui peuvent être causés isolement par chacun des virus.

Dans la dernière catégorie on peut classer la maladie complexe de la Tomate (Streak) provoquée par l'action combinée du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus X de la Pomme de terre. Nos recherches ont porté sur cette maladie.

Nous avons en effet étudié l'interférence entre les deux virus pendant les différents stades du développement de la maladie. La recherche a été étendue dans trois domaines:

Nous avons, tout d'abord, étudié l'expansion des deux virus tant isolement qu'en infection mixte. Ces études constituent la première partie de notre travail.

Étant renseignés sur le mouvement des deux virus dans la plante, nous avons procédé à l'étude de l'influence qu'exerce chacun d'eux sur la multiplication de l'autre. Ceci a constitué la deuxième partie de nos recherches.

En considérant les interférences des virus, on n'arrive pas à concevoir le sens de ces phénomènes hors de la plante. Les virus, en tant que parasites obligatoires, ne montrent aucune de ces activités pathologiques qui les distinguent des autres nucleoprotéines hors de la cellule de l'hôte et, par conséquent, la recherche sur la multiplication des virus doit nécessairement prendre en considération le substrat naturel de la cellule qui constitue le siège de cette activité. On connaît, par

ailleurs, que la synthèse de la protéine-virus provoque un bouleversement important de la physiologie de l'hôte et du métabolisme cellulaire. Désirant approfondir les interférences observées tant dans l'expansion des deux virus ainsi que dans leur multiplication, sensiblement modifiée par leur présence simultanée dans la plante, nous avons poussé notre recherche à l'étude de l'activité de certains enzymes respiratoires. L'activité oxydasique, étudiée par rapport à la multiplication des virus, a aidé d'une part à mieux comprendre les relations existant entre les deux virus, et d'autre part à déceler des relations importantes existant entre la multiplication de ceux ci et l'activité des enzymes étudiés. Ces recherches constituent la troisième partie de notre travail.

* * *

Avant d'exposer les résultats de nos recherches, nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à M. P. Limasset, Professeur de Botanique à l'École Nationale d'Agriculture de Montpellier, ex-directeur de la Station Centrale de Pathologie Végétale, qui sous sa dernière qualité a bien voulu nous accueillir dans son Laboratoire et nous accorder toute facilité pour la réalisation de ce travail. Il nous a proposé le sujet de cette étude, en a constamment suivi le développement, et n'a cessé de nous prodiguer ses précieux conseils.

Nous remercions aussi bien vivement M. H. Darpoux qui, ayant succédé à la direction de la Station, a témoigné un vif intérêt à nos recherches et nous a constamment procuré les moyens nécessaires pour achever notre travail.

Nous tenons également à témoigner notre très vive reconnaissance à M. G. Morel, Directeur de Laboratoire à la Station de Physiologie Végétale à Versailles, qui nous a généreusement ouvert son Laboratoire dans lequel nous avons effectué la partie de notre travail concernant les enzymes. Nous y avons trouvé un accueil vivement sympathique et des conseils très précieux.

Nous tenons à rendre ici un hommage attristé à la mémoire du savant A. Demolon, Membre de l'Institut, et d'adresser nos sincères remerciements à M. M. Lemoigne, Membre de l'Institut, pour l'intérêt qu'ils ont manifesté à nos recherches et pour avoir bien voulu présenter nos notes préliminaires à l'Académie des Sciences.

Qu'ils trouvent ici un souvenir sympathique tous nos collègues de la Station Centrale de Pathologie Végétale et particulièrement les collègues de la Section de Virologie MM. P. Cornuet, C. Martin, Mlle H.

Augier de Montgrémier et M. G. Morvan pour leur encouragement dans la poursuite de ces recherches.

Nous voudrions exprimer à cette place notre profonde gratitude à notre Maître J. A. Sarejanni, Professeur de Pathologie Végétale à l'École de Hautes Études Agronomiques d'Athènes, et pour une longue série d'années notre Directeur à l'Institut Phytopathologique Benaki, à qui nous devons notre formation de phytopathologiste.

Enfin, nous exprimons nos vifs remerciements à notre collègue M. S. Démétriadès, Maître de Conférences à l'École de Hautes Études Agronomiques d'Athènes, Chef de Laboratoire à l'Institut Phytopathologique Benaki, qui a bien voulu revoir le texte de notre manuscrit et nous faire des suggestions précieuses.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Price (1940)[1] et Bennett (1951, 1953) dans des articles relatifs aux interférences des virus, ont résumé les résultats acquis par les différents chercheurs qui ont étudié ce problème. Ici nous nous bornerons à résumer les principaux travaux réalisés sur les interférences des virus non apparentés.

McKinney (1941) a inoculé des plantes de *Nicotiana tabacum v. Maryland medium* par chacun des virus Y, Mosaïque du Concombre et Mosaïque du Céleri, qui provoquent sur cette plante des infections généralisées. Il a reinoculé ensuite les mêmes plantes par le virus 6 de Nicotiana qui provoque uniquement des lésions locales. Il a observé que non seulement le nombre des lésions était réduit, par rapport au témoin, mais qu'en plus les virus des trois mosaïques provoquaient un retard à l'apparition des taches. Il est évident qu'il existe un antagonisme entre les virus déjà installés et celui qui entre en jeu postérieurement.

Un autre cas d'antagonisme est cité par McWhorter (1938). Cet auteur a montré que la panachure de la Tulipe est due à l'existence de deux virus. L'un se caractérise par la capacité «d'enlever de la couleur» et l'autre «d'ajouter de la couleur». Une concentration augmentée du premier provoque la décoloration des fleurs; on observe le contraire s'il y a une augmentation de la concentration du second virus. Cette interférence a été designée «antithétique».

En étudiant l'interférence entre les virus X, A et Y de la Pomme de terre chez le Tabac, Stapp et Marcus (1943) ont observé que si on inoculait d'abord le virus X et ensuite chacun des autres, la multiplication de ces derniers virus était inhibée. Par contre, on n'observait pas le même phénomène dans le cas des infections simultanées.

Un cas particulier d'interférence entre virus non apparentés est

[1] La bibliographie citée dans ce mémoire comprend les travaux parus jusqu'au mois d'octobre 1955.

cité par Bawden et Kassanis (1945). Ces auteurs ont mis en évidence l'inhibition du virus Y et du virus 3 d'Hyoscyamus en présence du virus Severe Etch. Des plantes infectées par ce dernier virus présentent une immunité contre le virus Y. Dans le cas inverse il n'y a aucune protection contre le virus Severe Etch qui, pénetrant dans la plante, remplace totalement le virus Y. D'après les auteurs cités il est probable que le métabolisme de la plante est altéré par le virus Severe Etch de sorte que des substances nécessaires à la multiplication du virus Y cessent d'être formées.

Limasset (1944), et Limasset et Augier de Montgrémier (1946), en étudiant une maladie complexe du Tabac et de la Tomate provoquée par l'action combinée du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus I du Concombre, constatent l'apparition des symptômes nouveaux et ils supposent que ceux-ci résultent du renforcement d'un caractère latent commun aux deux virus composants.

Un autre cas, dans lequel on peut distinguer une action synergique, est celui rapporté par Smith (1945). Cet auteur, étudiant la maladie complexe du Tabac «Rosette», qui est due à l'action combinée des virus «Vein-distorting» et «Mottle», a constaté que le premier virus ne se transmet pas par le *Myzus persicae*. Pourtant il peut être transmis s'il est accompagné par le virus «Vein-distorting». Les causes de ce phénomène ne sont pas bien établies. L'auteur suppose que le virus «Mottle» se multiplie davantage en présence du virus «Vein-distorting» et que ceci facilite sa transmission.

Bennett (1949) décrit une interférence entre le virus de la Mosaïque latente de la Cuscute et les virus Etch et Mosaïque du Tabac. Lorsqu'on inocule des Tomates infectées préalablement par le virus de la Mosaïque latente de la Cuscute, au cours de la phase pendant laquelle la maladie devient chronique, d'une part avec le virus de la Mosaïque du Tabac et, d'autre part, avec le virus Etch, les plantes exteriorisent, en dehors des symptômes causés par les deux virus, les symptômes aigus de la Mosaïque latente de la Cuscute. En même temps le taux de ce dernier virus devient plus élevé par rapport aux témoins.

Un cas d'interférence analogue au précédent, dans lequel on constate une augmentation de la concentration d'un virus en présence d'un autre, est cité par Ross (1950). Cet auteur a montré que la multiplication du virus X de la Pomme de terre était stimulée en présence du virus Y chez le Tabac, le *Nicotiana glutinosa* et la Pomme de terre. Dans certains cas la concentration du virus X dans les tissus

en présence du virus Y était cinq fois plus élevée qu'en l'absence de ce dernier.

Le même auteur, en collaboration avec Rochow et Siegel (1952), a observé chez le Tabac inoculé, soit simultanément par les virus X et Y, soit d'abord par le virus X et ensuite par le virus Y, un taux de virus X dix fois plus élevé que chez les témoins ayant reçu ce dernier virus seul. Dans une publication postérieure Rochow et Ross (1954 a), en complétant leurs observations sur le cas ci-dessus, constatent d'une part qu'il y a une relation étroite entre la quantité du virus X et l'acuité des symptômes chez les plantes à infection mixte, et d'autre part que la concentration du virus Y n'est guère influencée par le virus X. De plus les mêmes auteurs (1954 b), constatent que chez le Tabac le virus X se multiplie davantage en présence, non seulement du virus Y mais aussi des virus de la Mosaïque du Tabac, Etch, de la Mosaïque du Concombre, de la Mosaïque de la Luzerne et du virus du Ring-Spot du Tabac.

Köhler (1943), afin de préciser si la multiplication d'un virus, inoculé dans une plante infectée préalablement par un autre virus se réalise aux dépens du premier virus, a inoculé des Tabacs par le virus de la Mosaïque du Tabac, et au stade de la floraison les a reinoculé avec le virus X. De ces expériences il a été démontré que le développement du virus X se fait indépendamment du virus de la Mosaïque du Tabac dont la concentration reste invariable. Le même auteur en collaboration avec Hauschild (1947), a aussi constaté que la concentration du virus de la Mosaïque du Tabac inoculé chez des plantes infectées préalablement par le virus X est égale à celle des témoins.

Jusqu'a 1953, où nous avons entrepris l'étude de l'interférence des virus de la maladie complexe de la Tomate (Streak), aucun travail n'avait été réalisé sur ce sujet. Nous entrons donc à l'analyse de notre étude après avoir intercalé un chapitre concernant l'identité de la maladie étudiée.

CHAPITRE II

LA MALADIE COMPLEXE DE LA TOMATE (STREAK)

La maladie complexe de la Tomate (Streak) a été attribuée à des différentes causes. On a d'abord supposé qu'elle était due à des bacteries (Bailley 1892, Paine et Bewly 1919), puis à des troubles physiologiques (Howitt et Stone 1916) et enfin à des virus (Gardner et Kendrick 1922). Il a été démontré par Johnson (1925) qu'elle est provoquée par l' action combinée du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus X de la Pomme de terre. Mais c'est Vanterpool (1926) qui l'a reproduite expérimentalement et donné dans une étude complète une description précise de l'aspect clinique de la maladie.

Nous décrirons ici brièvement les symptômes de la maladie sur la variété Maréchal Joffre de la Tomate, la seule que nous avons utilisée dans nos expériences.

Le premier symptôme apparaît, subitement, vers le cinquième jour. Il s'agit d'un enroulement des feuilles et des folioles qui entourent le bourgeon terminal. La surface supérieure du limbe devient rugueuse. En même temps la feuille la plus jeune du sommet de la plante présente un mouvement hélicoidal inverse à celui des aiguilles d'une montre. Si, à côté des plantes infectées par les deux virus on maintient des plantes ayant reçu le virus de la Mosaïque du Tabac seul, on observera, le même jour, un enroulement des feuilles tout à fait pareil. De ce fait on déduit que ce symptôme est dû à l'action du virus de la Mosaïque du Tabac. Le symptôme décrit est passager et disparaît après 24 à 48 heures.

Vers le 8e ou 9e jour, de nombreuses lésions nécrotiques commencent à apparaître sur le limbe des feuilles. Elles sont de forme angulaire et irregulière, de couleur brun-foncé, et mesurent de 1 à 2 milimètres. Les feuilles les plus sévèrement attaquées sont les feuilles supérieures de la plante. Ces lésions sont dues à l'action du virus X, car des plantes ayant reçu le même virus seul présentent simultanément les mêmes lésions nécrotiques quoique moins nombreuses.

Sur les nervures des feuilles on observe par places des nécroses de couleur brun-foncé. En outre, les pétioles et les tiges portent des

nécroses linéaires, longitudinales, de 0,5 à plusieurs centimètres de longueur, couvrant une partie et même la tige entière.

Les feuilles qui portent les lésions deviennent noirâtres, se fanent, et se dessèchent progressivement. Les petioles se détachent partiellement de la tige et les feuilles restent pendantes. Ces derniers symptômes constituent la phase aiguë de la maladie.

Chez les plantes infectées un grand nombre de feuilles se dessèchent et il n'y a finalement que celles du sommet qui survivent. Elles sont rugueuses et portent une mosaïqne jáune-verte et de petites lésions nécrotiques.

D'après Vanterpool (1926) le «Streak» se manifeste 11 à 14 jours après l'inoculation à des températures entre 18 et 24° C. L'apparition de la maladie exige un temps plus long si la température fluctue entre 13 et 18° C. D'après nos observations la maladie présente la phase aiguë vers le 12 jour dans le cas où la température varie entre 18 et 30° C. Les températures entre 25 et 30° C favorisent le développement du virus de la Mosaïque du Tabac (Johnson 1921). Celles entre 18 et 25° C semblent favoriser le développement du virus X. Une succession de températures, favorisant tantôt le virus de la Mosaïque du Tabac tantôt le virus X, aident à l'obtention d'un aspect typique de tous les symptômes décrits. Si les plantes sont trop jeunes, ayant des tissus aqueux, la phase aiguë de la maladie apparaît vers le 10e jour. Si par contre les tissus des plantes sont âgés et si en même temps la température reste au dessous de 20° C, l'on observe un retard à la manifestation de la maladie. Dans ce cas l'aspect clinique n'est pas complet.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE III

EXPANSION DES VIRUS

Avant d'étudier l'interférence des deux virus chez les plantes à infection mixte nous devions envisager le problème qui consistait à savoir à quel moment s'établie cette interférence entre les deux virus dans la plante.

Le premier contact des virus se réalise, théoriquement, dans la feuille inoculée, et se complète dans la plante après que les virus aient gagné la tige et commencé à se répandre dans les feuilles.

Les données bibliographiques sur l'expansion des deux virus chez la Tomate sont nombreuses mais il y a un désacord sur le temps nécessaire pour la diffusion des virus de la feuille inoculée dans la tige aussi bien que sur le temps indispensable pour leur expansion dans les autres parties de la plante. Ainsi Samuel (1934) a mis en évidence que le mouvement du virus de la Mosaïque du Tabac hors de la feuille inoculée dépend surtout de la vitesse de croissance de la plante, et qu'il faut compter 3 à 4 jours avant que celui-ci ne quitte la feuille inoculée. D'après le même auteur le virus gagne le bourgeon terminal et les quatre feuilles supérieures de la plante le 5ᵉ jour après l'inoculation.

D'après Kunkel (1939) le même virus sort de la feuille inoculée 44 heures après l'inoculation, bien que le temps nécessaire varie d'une plante à l'autre.

Capoor (1949), étudiant l'expansion du virus X et du virus de la Mosaïque du Tabac a précisé que le premier ne passe pas de la feuille inoculée dans la tige avant une periode de 3,5 jours, et que le second réalise le même mouvement dans 5 jours.

Panos (1948), tire les mêmes conclusions que Samuel (1934) en ce qui concerne le virus de la Mosaïque du Tabac. Il constate, d'autre part, que le virus X se décèle dans le bourgeon terminal le 6ᵉ jour après l'inoculation et se répand dans les quatre feuilles supérieures de la plante le 7ᵉ jour. Le même auteur, étudiant l'expansion des deux virus dans le cas des infections mixtes, a constaté que le virus X se décèle

au bourgeon terminal le 5e jour tandis que le virus de la Mosaïque du Tabac le 4e jour.

Ce désaccord dans les constatations ci-dessus nous a mis dans l'obligation d'entreprendre de nouveau l'étude de la question afin d'examiner, d'une part l'expansion des deux virus sous les conditions de nos expériences et, d'autre part, de rechercher une interférence éventuelle entre les deux virus pendant leur expansion.

MÉTHODES ET MATÉRIEL

Pour chaque expérience nous utilisions un certain nombre de plantes de Tomate appartenant à la variété Maréchal Joffre et portant 6 à 10 feuilles bien développées. Les plantes provenant de semis se transplantaient d'abord à des pots d'un diamètre de 7 à 9 centimètres et ensuite à des pots de 15 centimètres de diamètre dans un mélange homogène de terreau, de terre cultivée, et de sable. Elles restaient dans la serre jusqu'au moment de leur utilisation, en recevant les soins culturaux nécessaires. D'un lot de plantes du même âge nous choisissions des individus présentant une uniformité de développement, de hauteur, et de nombre de feuilles. On inoculait la foliole terminale de la quatrième ou de la cinquième feuille, numérotée à partir de la base de la plante, avec du jus provenant des Tabacs infectés par le virus soumis à l'expérience. L'inoculation se réalisait par frottement à l'aide d'une spatule de verre et de poudre de carborundum. Dans le cas des inféctions mixtes on préparait l'inoculum en mélangeant des volumes égaux des deux jus contenant les virus.

Pour déceler la présence du virus on effectuait une épreuve toutes les 24 heures, en réalisant la première 48 heures après l'noculation. On étudiait ainsi le temps nécessaire a) pour que le virus passe de la feuille inoculée dans la tige, en utilisant une partie de la tige principale, d'une longueur de 1 cm de part et d'autre du point de l'insertion de la feuille inoculée, b) pour que le virus gagne le sommet de la plante, en controlant les feuilles du bourgeon terminal, c) pour que le virus arrive dans la racine en examinant la partie supérieure de la racine principale, et d) le temps indispensable pour que le virus se répande dans les différentes feuilles, en examinant les feuilles elles-mêmes.

Nous utilisions quotidiennement deux plantes dont nous enlevions avec des ciseaux et des scalpels stérilisés toutes les parties mentionnées. Les parties de la tige et de la racine se plaçaient dans des tubes stérilisés, sur du coton imbibé d'eau, et les feuilles sur un carton per-

foré et placé au-dessus d'une cuvette contenant de l'eau dans laquelle plongeaient les pétioles. Nous prenions tous les soins pour éviter les infections intempestives. Après un délai de 4 à 5 jours pour les feuilles, et d'une semaine environ pour les parties de la tige et de la racine, nous extrayions leur jus avec lequel nous inoculions des feuilles de *Nicotiana glutinosa* pour la constatation du virus de la Mosaïque du Tabac, et de *Gomphrena globosa* pour le virus X.

La multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac chez des feuilles détachées a été démontrée par Purdy (1928) et chez des parties de tige isolées par Samuel (1934). Nous avons appliqué avec succès la même téchnique dans le cas du virus X.

I. EXPANSION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC

L'expérience eut lieu au mois d'octobre à des températures fluctuant entre 18 et 25° C.

Les résultats de l'expérience, résumés dans le tableau I, nous conduisent aux constatations suivantes:

TABLEAU I

Expansion du virus de la Mosaïque du Tabac chez la Tomate.

Temps écoulé à partir du jour de l'inoculation		Tige principale	Feuilles [1]						Bourgeon terminal	Racine
Jours	Heures		1	2	3	4	5	6		
1	24									
2	48	+							+	
3	72	+							+	+
4	96	+				inoculée			+	+
5	120	+						+	+	+
6	144	+	+	+			+	+	+	+
7	168	+	+	+			+	+	+	+
8	192	+	+	+	+		+	+	+	+

[1] Les feuilles sont numérotées à partir de la feuille la plus basse en allant vers le sommet.

+ dénote la présence du virus.

1. Le virus de la Mosaïque du Tabac passe de la feuille inoculée dans la tige au bout de 48 heures.

2. Il arrive au bourgeon terminal dans le même laps de temps.
3. Il gagne la racine principale après 72 heures.
4. Après 120 heures, soit 5 jours, le virus envahit la 6e feuille, ensuite les 1ère, 2e, et 5e, et au bout de 8 jours il se décèle dans toutes les feuilles.

II. EXPANSION DU VIRUS X

Parallèlement à l'expérience sur l'expansion du virus de la Mosaïque du Tabac nous avons effectué, sous les mêmes conditions une expérience identique pour le virus X.

Les résultats de l'expérience sont présentés dans le tableau II. De leur examen nous tirons les conclusions suivantes :

TABLEAU II

Expansion du virus X chez la Tomate.

Temps écoulé à partir du jour de l'inoculation		Tige principale	Feuilles [1]						Bourgeon terminal	Racine
Jours	Heures		1	2	3	4	5	6		
1	24									
2	48									
3	72									
4	96	+				inoculée			+	+
5	120	+						+	+	+
6	144	+						+	+	+
7	168	+					+	+	+	+
8	192	+	+	+			+	+	+	+
9	216	+	+	+			+	+	+	+
10	240	+	+	+	+		+	+	+	+

[1] Les feuilles sont numérotées à partir de la feuille la plus basse en allant vers le sommet.

+ dénote la présence du virus.

1. Le virus X demande un délai de 4 jours pour passer de la feuille inoculée dans la tige.
2. Il se décèle en même temps au bourgeon terminal et dans la racine.
3. Le 5e jour il gagne la 6e feuille, il envahit ensuite les 5e, 1ère et 2e feuilles, et au bout de 10 jours il se généralise dans la plante.

III. EXPANSION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC ET DU VIRUS X DANS LE CAS DES INFECTIONS MIXTES

Afin de déterminer si les deux virus, inoculés simultanément, se répandent dans la plante indépendamment l'un de l'autre, nous avons effectué une expérience dans laquelle nous avons utilisé 15 plantes portant chacune 10 feuilles. L'inoculation a été réalisé sur la foliole terminale d'une feuille du milieu de la plante par le mélange des deux virus. L'expérience a eu lieu au mois de novembre et la température fluctuait entre 18 et 25° C.

TABLEAU III

Expansion des deux virus dans le cas des infections mixtes.

Temps écoulé à partir du jour de l'inoculation		Virus de la Mosaïque du Tabac			Virus X		
Jours	Heures	Tige principale	Bourgeon terminal	Racine	Tige principale	Bourgeon terminal	Racine
1	24						
2	48						
3	72	+	+	+	+		+
4	96	+	+	+	+	+	+
5	120						
6	144						
7	168						

+ dénote la présence du virus.

Dans cet essai nous avons voulu préciser le temps nécessaire à l'expansion des virus vers les trois parties de la plante : tige principale, bourgeon terminal, et la racine.

Les résultats de l'expérience présentés dans le tableau III montrent que le temps d'expansion des deux virus chez les plantes à infection mixte est modifié. En effet, le virus de la Mosaïque du Tabac passe de la feuille inoculée dans la tige après un délai de 72 heures, tandis que lorsqu'il agit seul il se décèle au même point au bout de 48 heures. Par ailleurs le virus X, bien qu'il exige un temps de 96 heures pour réaliser le même passage quand il agit isolement dans la plante, il ne demande dans le cas des infections mixtes que 72 heures.

IV. EXPANSION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC CHEZ DES PLANTES PRÉALABLEMENT INFECTÉES PAR LE VIRUS X

Pour cette expérience nous avons utilisé deux groupes de plantes mesurant 50 et 70 centimètres de hauteur, et infectées par le virus X un mois avant l'inoculation avec le virus de la Mosaïque du Tabac. Le dernier virus était inoculé à la quatrième feuille à partir du sommet de la plante. Dans cet essai nous avons également déterminé le temps nécessaire à l'expansion du virus dans la tige principale, le bourgeon terminal et la racine. L'expérience a été réalisée au mois de novembre sous les mêmes conditions de température que l'expérience précédente.

Nous avons constaté que dans les deux groupes de plantes l'expansion du virus exige 48 heures pour se répandre dans les parties examinées.

V. EXPANSION DU VIRUS X CHEZ DES PLANTES PRÉALABLEMENT INFECTÉES PAR LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC

Dans cet essai nous avons utilisé 15 plantes, portant chacune 10 feuilles infectées par le virus de la Mosaïque du Tacac 20 jours avant

TABLEAU IV

Expansion du virus X chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac.

Temps écoulé à partir du jour de l'inoculation		Tige principale	Feuilles [1]						Bourgeon terminal	Racine
Jours	Heures		5	6	7	8	9	10		
1	24									
2	48									
3	72									
4	96	+								+
5	120	+	inoculée						+	+
6	144	+						+	+	+
7	168	+		+			+	+	+	+
8	192	+		+		+	+	+	+	+
9	216	+		+	+	+	+	+	+	+

[1] Les feuilles sont numérotées à partir de la feuille la plus basse en allant vers le sommet.

+ dénote la présence du virus.

l'inoculation avec le virus X. Au cours de l'expérience la température a fluctué entre 18 et 30° C. Le temps d'expansion du virus a été étudié sur les trois parties: la tige principale, le bourgeon terminal et la racine, et, de plus, sur toutes les feuilles poussant au dessus de la feuille inoculée qui était la 5ᵉ à partir de la base de la plante.

Des résultats présentés dans le tableuu IV nous faisons les constatations suivantes:

1. Le virus X passe dans la tige principale après un délai de 96 heures.
2. Il arrive en même temps dans la racine principale.
3. Il se décèle au bourgeon terminal 24 heures plus tard.
4. Il gagne la première, sous le sommet, feuille le 6ᵉ jour, puis il se répand progressivement dans les autres feuilles et au bout de 9 jours il finit par occuper toutes les feuilles situées au dessus de la feuille inoculée.

VI. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

On sait que l'expansion des virus est influencée par plusieurs facteurs dont les plus importants sont l'âge et la vitesse de croissance de l'hôte, et la température de l'atmosphère. Les différences constatées dans les résultats des différents chercheurs sont probablement dues à l'influence de ces facteurs, et nous ne croyons pas qu'on puisse trouver des valeurs absolues déterminant le temps d'expansion des virus, mais des valeurs fluctuant entre certaines limites.

Ceci est évident si l'on admet l'hypothèse très plausible, de la multiplication des virus dans la feuille inoculée et de leur passage très lent d'une cellule à l'autre par la voie des plasmodesmes. Or, la multiplication des virus est influencée par les facteurs mentionnés ce qui a une repercussion sur le temps d'expansion en dehors de la feuille inoculée. Ainsi Capoor (1949) étudiant l'expansion du virus X a constaté, dans le même groupe de plantes, que le passage du virus de la feuille inoculée dans la tige exige 3 à 5 et plus de 5 jours. De même Pavillard (1953) étudiant le mouvement du virus de la Mosaïque du Tabac chez la Tomate constate que le temps d'expansion varie suivant la saison de l'année.

Sous les conditions de nos expériences, les résultats concernant l'expansion du virus de la Mosaïque du Tabac sont d'accord avec ceux de Kunkel (1939). La multiplication du virus dans la feuille inoculée est très rapide et dans 48 heures celui-ci passe dans la tige principale.

Le temps de 3 jours donné par Samuel (1934) pour le même mouvement du virus de la Mosaïque du Tabac est dû probablement à la différences des conditions expérimentales. Nous croyons que le laps de temps de 3, 4 et 7 jours donné par Pavillard (1953), et celui de 4 jours trouvé par Panos (1948), qui a utilisé des plantes à peu près semblables aux nôtres et de la même variété, sont surestimés. Ceci est dû au fait que la technique microsérologique (Limasset et Augier de Montgrémier 1947a, 1947b, 1948) utilisée par les deux auteurs ne peut, d'après nos observations, déceler de très petites quantités de virus.

Le virus X plus lent que le virus de la Mosaïque du Tabac, sous les mêmes conditions expérimentales, se décèle dans la tige principale et au bourgeon terminal 96 heures après l'inoculation. Sur ce point nos résultats corroborent absolument ceux obtenus par Capoor (1949). D'après Panos (1948) le virus se décèle au bourgeon terminal le 6e jour. Nous considérons que la différence de deux jours, entre les résultats obtenus par cet auteur et les nôtres, est due à la téchnique microsérologique utilisée par lui. En effet, en employant la même téchnique parallèlement à la téchnique d'inoculation de feuilles de *Gomphrena* après incubation du virus, nous avons constaté, que le virus se décèle au bourgeon terminal 6 jours après l'inoculation.

Dans le cas des infections mixtes et simultanées nous avons constaté, d'une part un ralentissement de l'expansion du virus de la Mosaïque du Tabac, et d'autre part une accélération de celle du virus X. Il est évident que les mouvements des deux virus ne sont pas indépendants l'un de l'autre, et qu'il y a une interférence favorisant le progrès de l'un d'eux au détriment de l'autre. Des résultats donnés par Panos (1948) on constate aussi que l'expansion du virus X est plus rapide chez les plantes à infection mixte de 24 heures. Bien que le temps de 5 jours donné pour l'expansion du virus X au bourgeon terminal soit plus long que celui donné par nous, il est cependant clair qu'il existe un phénomène d'interférence entre les deux virus dans le domaine de leur expansion.

En ce qui concerne l'expansion d'une part du virus de la Mosaïque du Tabac chez des plantes préalablement infectées par le virus X et d'autre part du virus X chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac, nous avons constaté le même mouvement que lorsqu'ils agissent seuls dans la plante.

CHAPITRE IV

PHÉNOMÈNES D'INTERFÉRENCE ENTRE LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC ET LE VIRUS X

Comme nous l'avons déjà exposé dans l'introduction, la présence simultanée dans la plante de deux virus non apparentés provoque des phénomènes soit d'antagonisme soit de synergisme. Il existe d'ailleurs un troisième cas dans lequel les virus agissent indépendamment, sans aucune interférence. Il en résulte une simple superposition des symptômes appartenant aux deux virus.

Dans la maladie complexe de la Tomate (Streak) on observe des symptômes tout à fait nouveaux, en dehors de ceux qui sont provoqués par chacun des deux virus.

Dans cette partie nous exposons les résultats de notre étude sur la multiplication des deux virus au cours de l'infection de la plante et sur les relations existant entre le développement des virus, et l'aspect clinique de la maladie.

MÉTHODES ET MATÉRIEL

1. Matériel. Dans toutes les expériences nous avons utilisé la variété Maréchal Joffre. Des plantules provenant de semis se transplantaient d'abord à des pots d'un diamètre de 7 à 9 centimètres et ensuite à des pots de 15 centimètres de diamètre, dans un mélange homogène de terreau, de terre cultivée et de sable. Les plantes restaient dans la serre recevant tous les soins culturaux qui visaient à la production d'un matériel non seulement uniforme en ce qui concerne la hauteur et le nombre de feuilles, mais aussi physiologiquement homogène. Elles étaient utilisées au stade de 8 à 10 feuilles bien développées.

La température sous laquelle on effectuait les expériences n'était pas constante, mais elle fluctuait entre certaines limites déterminées d'une part par la saison de l'année et d'autre part par nous-mêmes. Des expériences préliminaires avaient montré qu'une fluctuation journalière de la température entre 20 et 30° C assurait une évolution régulière de la maladie. En effet, les basses températures favorisent le développement du virus X, tandis que celles autour de 30° C la multiplication du virus da la Mosaïque du Tabac. A la suite de ces obser-

vations nous avons tâché d'assurer journellement cette fluctuation de température. Une température constante eût été soit un optimum pour le développement de l'un des deux virus, soit desavantageuse pour tous les deux. Par contre une température fluctuant, d'une part adapterait l'expérience aux conditions naturelles, et, d'autre part, favoriserait alternativement l'activité de tous les deux virus.

Dans toutes les expériences nous avons utilisé les mêmes souches de virus: pour le virus de la Mosaïque du Tabac la souche commune et pour le virus X une souche très virulente isolée de la variété Arran Banner. Les deux virus se conservaient chez des Tabacs renouvellés de temps en temps.

2. Méthode expérimentale. En choisissant des plantes uniformes nous en formions trois groupes. Le premier groupe recevait le virus de la Mosaïque du Tabac, le deuxième le virus X, et le troisième les deux virus ensemble. Pour des raisons de brièveté nous designerons dorénavant ces trois groupes par les lettres (MT), (X), et (C).

Nous distinguons, d'ailleurs, les «infections mixtes» provoquées par les deux virus lorsqu'ils agissent ensemble, indépendamment du moment de leur inoculation, et les «infections mixtes et simultanées» résultant de l'action combinée des deux virus entrant simultanément dans la plante.

L'inoculation s'effectuait à la foliole terminale de la 5ᵉ feuille à partir du sommet de la plante avec du jus provenant des Tabacs, à l'aide d'une spatule de verre et de poudre de carborundum. Pour les infections mixtes et simultanées nous nous servions d'inoculum préparé par un mélange de volumes égaux des deux jus contenant les virus.

Le dosage des virus était effectué à trois stades:

1er stade: 5 jours après l'inoculation.

2e » : au début de l'apparition des premiers symptômes chez les plantes infectées par les deux virus, soit 8 jours environ après l'inoculation.

3e » : pendant la phase aiguë de la maladie complexe, soit 11 à 13 jours après l'inoculation.

L'étude de l'expansion des virus nous a révélé que le virus de la Mosaïque du Tabac se trouve dans la plante à partir du troisième jour après l'inoculation, et le virus X à partir du cinquième. Par conséquent, bien que la concentration de ceux-ci ne fût pas encore mesurable, nous avons fixé comme premier stade, celui de 5 jours après l'inoculation afin de suivre le développement de virus de tout près. L'apparition des premiers symptômes chez les plantes ayant reçu les deux

virus simultanément a lieu 8 jours environ après l'inoculation. A ce moment les virus sont déjà répandus dans plusieures parties de la plante. Un contact entre eux est déjà établi, et s'il y a des phénomènes d'interférence nous pourrions en avoir les premières répercussions sur la concentration des virus. Enfin pendant la phase aiguë de la maladie, comprise entre le 11e et 14e jour, nous cherchions le résultat final sur la concentration des deux virus.

A chacun de ces trois stades nous utilisions trois plantes de chaque groupe (MT), (X), et (C), dont nous nous servions de la partie entière située au dessus de la feuille inoculée. Nous considérons que la partie utilisée de la plante est la plus représentative pour l'observation des phénomènes d'interférence.

On découpait les trois plantes de chaque groupe en de petits fragments, et on en préparait un mélange homogène. Une partie de ce matériel, préalablement pesée, était utilisée pour la détermination de la matière sèche. Du matériel restant, après l'avoir pesé, on extrayait le jus à l'aide d'une presse à main. On tâchait d'effectuer le travail d'extraction d'une façon uniforme pour les trois échantillons. Le jus obtenu de chaque échantillon était mesuré et gardé au frigidaire jusqu' à la fin du travail du broyage de tous les échantillons. Avant l'utilisation le jus se clarifiait par une centrifugation de 20 minutes à 5 000 tours/min. On le plaçait ensuite au bain - marie, à une température de 45e C pendant 30′ minutes et à 50° C pendant 5′ minutes. De cette façon, la plus grande partie de protéines normales se coagulait. Une deuxième centrifugation donnait des jus colorés mais clarifiés.

3. **Dosage des virus.** Pour le dosage des virus nous avons utilisé la méthode sérologique quantitative décrite par Beale (1934) et adaptée par le même auteur à l'emploi de petites quantités d'immunsérum et d'antigène. Suivant cette méthode on préparait une gamme de dilutions avec le jus provenant de plantes (MT), et une deuxième avec celui issu des plantes (X). Avec le jus obtenu des plantes (C) on préparait deux séries de dilutions correspondant aux séries (MT) et (X). Pour les dilutions nous utilisions de la solution physiologique (NaCl 8 ‰). Dans des tubes d'un diamètre de 7 milimètres on mettait 0,2 cc de la dilution préparée et on ajoutait 0,2 cc d'immunsérum dilué au 1/40 avec de la solution physiologique. Des deux séries préparées avec le jus des plantes (C) l'une recevait le sérum anti - X et l'autre le sérum anti - Mosaïque du Tabac. La disposition des séries était la suivante:

Dilutions	1, 1/2.., 1/256	jus des plantes	(MT)	+ sérum anti-Mosaïque du Tabac
»	1, 1/2.., 1/256	» » »	(C)	+ sérum anti-Mosaïque du Tabac
»	1, 1/2.., 1/256	» » »	(X)	+ sérum anti-X
»	1, 1/2.., 1/256	» » »	(C)	+ » » X

Les tubes contenant le mélange d'antigène et d'immunsérum se plaçaient au bain-marie à une température de 44° C pendant une heure, et on faisait la première lecture qui avait comme but de déterminer la dilution-limite. Les résultats rapportés dans le travail sont ceux de la première lecture; ils sont en concordance avec les résultats de la seconde lecture réalisée au bout de 2 heures.

4. Évaluation du pouvoir infectieux des virus. Pour l'évaluation quantitative des virus nous nous sommes appuyés surtout sur la méthode sérologique décrite plus haut. L'évaluation du pouvoir infectieux eut lieu uniquement dans certains cas de comparaison dans lesquels nous avons voulu savoir s'il existait un parallélisme entre la quantité de la protéine-virus et du pouvoir pathogène. Pour apprécier ce dernier nous avons utilisé la méthode des lésions locales (Zachos 1955 b). Afin de comparer, suivant cette méthode, le pouvoir infectieux de deux préparations du virus X ou du virus de la Mosaïque du Tabac on utilisait les plantes *Gomphrena globosa* et *Nicotiana glutinosa*. Pour chaque comparaison on employait 16 plantes et de chaque plante 2 feuilles. Pour la comparaison du pouvoir infectieux des jus des plantes (X) et (C) on préparait les dilutions $(X)_1$ $(X)_2$ pour le premier et $(CX)_1$ $(CX)_2$ pour le second, et avec les quatre dilutions ainsi préparées on inoculait les quatre moitiés de deux feuilles. On effectuait le même travail pour les jus (MT) et (C), dont les dilutions correspondantes étaient $(MT)_1$ $(MT)_2$ pour le premier et $(CMT)_1$ $(CMT)_2$ pour le second.

5. Expression des résultats. Dans le cas d'évaluation de la concentration des virus par la méthode sérologique les résultats seront présentés par le titre sérologique du virus (dilution-limite) rapporté a) à 100 milligrammes de matière sèche et b) à 1 gramme de matière fraîche. Dans le cas d'évaluation du pouvoir infectieux on effectue une comparaison entre deux préparations et forcement le pouvoir infectieux de l'une sera donné en pourcentage de l'autre, rapporté a) à 100 milligrammes de matière sèche et b) à 1 gramme de matière fraîche.

I. MULTIPLICATION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC ET DU VIRUS X CHEZ DES PLANTES SIMULTANÉMENT INFECTÉES PAR LES DEUX VIRUS

Afin d'étudier la multiplication des deux virus dans le cas des infections mixtes et simultanées, nous avons réalisé plusieurs séries d'expériences à des saisons différentes de l'année. Toutes les expériences ont fourni des résultats analogues. Nous présentons ci-dessous une expérience effectuée au mois d'avril.

Pour cet essai nous avons utilisé 27 plantes partagées en trois groupes dont le premier avait reçu le virus de la Mosaïque du Tabac, le deuxième le virus X, et le troisième les deux virus simultanément.

Le premier dosage des virus eut lieu le 5e jour après l'inoculation. Les plantes (MT) et (C) présentaient le symptôme de «l'enroulement». Les plantes (X) ne manifestaient aucun symptôme. Le 7e jour on avait sur les plantes (C) un début de nécroses dues à la maladie complexe et nous avons réalisé le dosage du 2e stade. Enfin le 11e jour les plantes (C) présentaient la phase aiguë de la maladie. A ce moment nous avons procédé à l'examen du 3e stade.

Les résultats du dosage des virus sont présentés dans le tableau V. De plus ils se traduisent par les graphiques des figures 1 et 2.

TABLEAU V

Résultats du dosage du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus X aux trois stades de la maladie.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
1er stade		
(MT)	1 : 31	1 : 25
(CMT) *	1 : 14	1 : 12
(X)	—	—
(CX) *	—	—
2e stade		
(MT)	1 : 81	1 : 75
(CMT)	1 : 79	1 : 74
(X)	1 : 7	1 : 6
(CX)	1 : 13	1 : 12
3e stade		
(MT)	1 : 118	1 : 99
(CMT)	1 : 35	1 : 44
(X)	1 : 20	1 : 17
(CX)	1 : 69	1 : 87

* (CMT) et (CX) représentent le même jus dans lequel on a dosé d'une part le virus de la Mosaïque du Tabac et d'autre par le virus X.

L'analyse des données du tableau V et l'étude des courbes des figures 1 et 2 montrent que, le 5e jour après l'inoculation, le virus X ne présente aucun développement, tandis que le virus de la Mosaïque du Tabac est déjà suffisament développé. Néanmoins, la croissance de ce dernier virus n'est pas identique chez les plantes à infection mixte

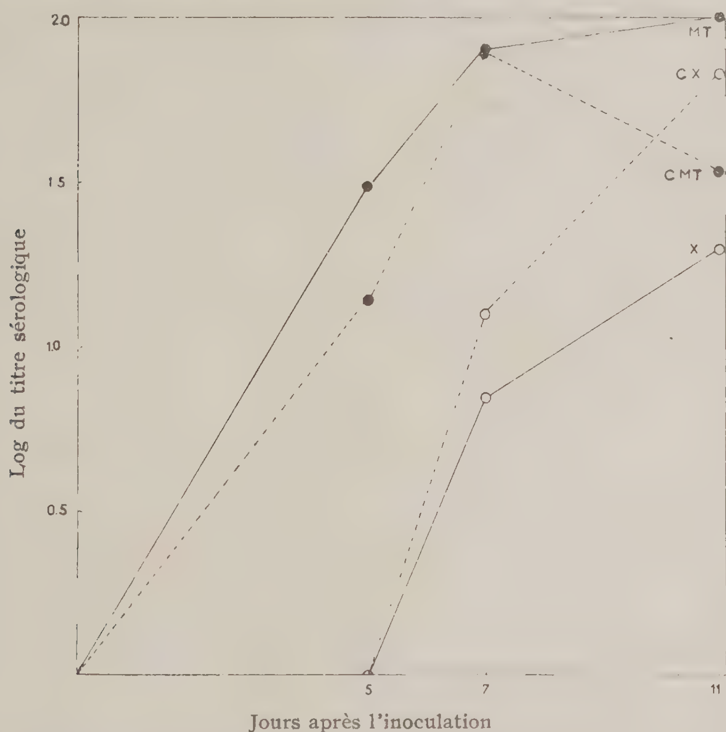


Fig. 1. Courbes de multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus X chez des plantes infectées simultanément et isolement par les deux virus, rapportées à la matière sèche.

MT : virus de la Mosaïque du Tabac seul dans les plantes.
CMT : » » » » » » chez les plantes à infection mixte.
X : » X seul dans les plantes.
CX : » » chez les plantes à infection mixte.

et chez les témoins. La concentration du virus, chez les plantes hebergeant les deux virus, est diminuée de moitié par rapport à celle des plantes ayant reçu le virus seul. Le dosage effectué au 2e stade révèle

que la concentration du virus X, chez les plantes à infection mixte, est deux fois plus élevée que chez les témoins. Il n'en est pas de même pour le virus de la Mosaïque du Tabac qui présente un taux égal dans les deux groupes de plantes (MT) et (C). Enfin au stade de la phase aiguë de la maladie le virus X présente, chez les plantes infec-

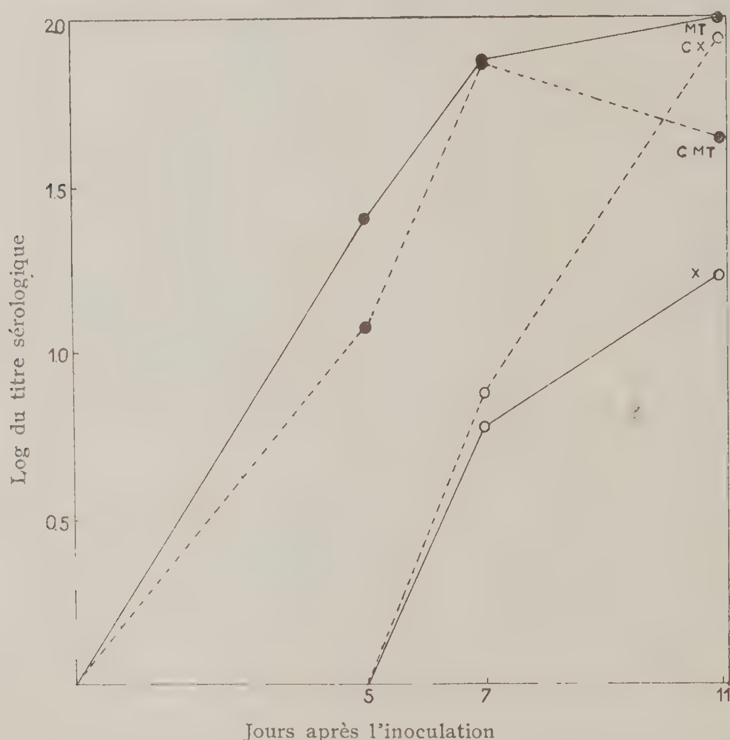


Fig. 2. Courbes de multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus X chez les plantes infectées simultanément et isolement par les deux virus, rapportées à la matière fraîche.

MT : virus de la Mosaïque du Tabac seul dans les plantes.
CMT : » » » » » » chez les plantes à infection mixte.
X : » X seul dans les plantes.
CX : » » chez les plantes à infection mixte.

tées par les deux virus, une concentration de 3 à 5 fois plus élevée que chez les plantes infectées par le virus seul, rapportée respectivement à la matière sèche et la matière fraîche. Par contre, le virus de la

Mosaïque du Tabac présente chez les plantes à infection mixte un taux diminué de 2 à 3 fois, comparativement à celui de plantes ayant reçu le virus seul, calculé respectivement par rapport à la matière sèche et la matière fraîche.

TABLEAUX VI

Nombre de lésions et leurs logarithmes correspondants provenant du test sur le pouvoir infectieux des jus (MT) et (CMT) au 3e stade.

Groupes de plantes de N. glutinosa	(MT)$_1$		CMT)$_1$		(MT)$_2$		(CMT)$_2$	
	Nombre de lésions	log	Nombre de lésions	log	Nombre de lésions	log	Nombre de lésions	log
	G *		D		G		D	
1 + 3	51	1,71	23	1,36	21	1,32	10	1,00
5 + 7	90	1,95	79	1,90	19	1,28	18	1,26
9 + 11	20	1,30	15	1,18	8	0,90	4	0,60
13 + 15	29	1,46	22	1,34	18	1,26	10	1,00
	D **		G		D		G	
2 + 4	108	2,03	88	1,94	34	1,53	31	1,49
6 + 8	36	1,56	43	1,63	12	1,08	12	1,08
10 + 12	26	1.40	35	1,54	7	0,85	12	1,08
14 + 16	34	1.53	22	1,51	14	1,15	10	1,00
Totaux		12,94		12,40		9,37		8,51

Log M = — 0,18766 ± 0,02723
M = 65 ± 3

* Moitié de feuille gauche ** Moitié de feuille droite.

Dans les tableaux VI, VII et VIII nous avons présenté les données de l'évaluation du pouvoir infectieux des deux virus réalisée au stade de la phase aiguë de la maladie.

En considérant les données du tableau VIII on constate que le pouvoir infectieux, tant dans le cas du virus de la Mosaïque du Tabac que dans celui du virus X, présente le même rapport que le titre sérologique des virus chez les différents groupes de plantes.

Dans les différents essais que nous avons réalisés nous avons observé que le cours du développement des virus n'est pas toujours identique à celui de l'expérience analysée plus haut, mais qu'il est influencé par les conditions de température. C'est à cause de la tempé-

TABLEAU VII

Nombre de lésions et leurs logarithmes correspondants provenant du test sur le pouvoir infectieux des jus (X) et (CX) au 3e stade.

Groupes de plantes de G. globosa	$(CX)_1$ Nombre de lésions	log	$(X)_1$ Nombre de lésions	log	$(CX)_2$ Nombre de lésions	log	$(X)_2$ Nombre de lésions	log
	G *		D		G		D	
1 + 3	31	1,49	13	1,11	2	0,30	3	0,48
5 + 7	25	1,40	11	1,04	4	0,60	4	0,60
9 + 11	20	1,30	4	0,60	5	0,70	1	0,00
13 + 15	18	1,26	7	0,85	1	0,00	2	0,30
	D **		G		D		G	
2 + 4	17	1,23	2	0,30	3	0,48	1	0,00
6 + 8	24	1,38	5	0,70	6	0,78	4	0,60
10 + 12	19	1,28	5	0,70	4	0 60	1	0,00
14 + 16	26	1,42	6	0,78	8	0,90	2	0,30
Totaux		10,76		6,08		4,36		2,28

$\text{Log } M = -0{,}66274 \pm 0{,}13533$

$M = 22 \pm 8$

* Moitié de feuille gauche ** Moitié de feuille droite.

TABLEAU VIII

Résultats d'évaluation du pouvoir infectieux du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus X au 3e stade.

Pouvoir infectieux				
Par rapport à la matière sèche			Par rapport à la matière fraîche	
		% 3e stade		%
(MT)	92	100	77	100
(CMT)	35 ± 2	38 ± 2	44 ± 2	57 ± 3
(X)	18 ± 6	33 ± 11	15 ± 6	22 ± 8
(CX)	54	100	68	100

rature qu'il n'est pas toujours possible d'avoir au 1er stade une quantité de virus mesurable. Dans l'expérience citée ci-dessus les plantes (C) et (MT) ont manifesté le symptôme de l' «enroulement» au 1er

stade tandis que celui-ci ne se manifeste habituellement que le 6e ou le 7e jour après l'inoculation. L'apparition de ce symptôme un jour plus tôt est due à la température qui a aussi influencé l'apparition des autres symptômes de la maladie complexe d'après lesquels sont fixés les 2e et 3e stades.

Dans les tableaux IX, X, et XI nous présentons les résultats du dosage des virus, ainsi que ceux de l'évaluation de leur pouvoir infectieux, obtenus aux deux premiers stades d'une deuxième expérience. Dans celle-ci le 2e stade eut lieu le 9e jour après l'inoculation, c'est-à-dire, avec un retard de deux jours par rapport au temps exigé dans l'expérience décrite plus haut. Ce fait est dû à la température.

TABLEAUX IX

Résultats du dosage du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus X aux deux premiers stades.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
	1er stade	
(MT)	—	—
(CMT) *	—	—
(X)	—	—
(CX) *	—	—
	2e stade	
(MT)	1 : 86	1 : 48
(CMT)	1 : 100	1 : 49
(X)	1 : 25	1 : 19
(CX)	1 : 50	1 : 36

* (CMT) et (CX) représentent le même jus dans lequel on a dosé d'une part le virus de la Mosaïque du Tabac et d'autre part le virus X

Des résultats donnés dans le tableau IX on voit que ni le virus de la Mosaïque du Tabac ni le virus X présentent une concentration mesurable au 1er stade. Par contre, au 2e stade les deux virus sont bien développés et l'on constate que les résultats du dosage corroborent absolument les résultats de l'expérience précédente. Tandis que le virus de la Mosaïque du Tabac était également développé chez les plantes (MT) et (C), le virus X était favorisé chez les plantes (C), présentant un taux deux fois plus élevé par rapport au témoin. Du tableau XI on constate également que le pouvoir infectieux de la préparation du

TABLEAU X

Nombre de lésions et leurs logarithmes correspondants provenant du test sur le pouvoir infectieux des jus (X) et (CX) au 2e stade.

Groupes de plantes de G. globosa	$(CX)_1$		$(X)_1$		$(CX)_2$		$(X)_2$	
	Nombre de lésions	log	Nombre de lésions	log	Nombre de lésions	log	Nombre de lésions	log
	G *		D		G		D	
1 + 3	29	1,46	22	1,34	8	0,90	2	0,30
5 + 7	8	0,90	9	0,75	6	0,78	2	0,30
9 + 11	33	1,52	27	1,43	9	0,95	7	0 85
13 + 15	27	1,43	12	1,08	4	0,60	2	0,30
	D **		G		D		G	
2 + 4	21	1.32	17	1,23	14	1,15	2	0,30
6 + 8	7	0,85	7	0.85	3	0,48	4	0,60
10 + 12	11	1,04	19	1.28	4	0,60	0	0,00
14 + 16	8	0,90	3	0,48	1	0,00	0	0.00
Totaux		9,42		8,64		5,46		2,65

Log M = — 0,36080 ± 0,13660
M = 44 ± 12

* Moitié de feuille gauche ** Moitié de feuille droite.

TABLEAU XI

Résultats de l'évaluation du pouvoir infectieux de jus (X) et (CX) au 2e stade.

Pouvoir infectieux					
Par rapport à la matière sèche			Par rapport à la matière fraîche		
2e stade					
		%		%	
(X)	70 ± 19	45	34 ± 9	44	
(CX)	156	100		100	

virus X provenant des plantes (C) est supérieur de deux fois au pouvoir infectieux de la préparation provenant des plantes (X) qui ont servi comme témoins.

L'analyse des résultats fournis par les expériences décrites nous montre que la multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac est,

chez les plantes infectées simultanément par les deux virus, partiellement inhibée. Ce fait entraine une diminution du taux du virus aux 1er et 3e stades. Par contre la croissance du virus X, dans le cas des infections mixtes, est plus intense comparativement à celle des témoins. Cette constatation nous a conduit à étudier la multiplication des deux virus dans le cas où le virus X était inoculé chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac.

II. MULTIPLICATION DES DEUX VIRUS CHEZ DES PLANTES PRÉALABLEMENT INFECTÉES PAR LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC

Dans cette série d'expériences nous avons utilisé des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac. Après une période de 25, 15 et 5 jours, les plantes recevaient le virus X. Le dosage des virus était effectué uniquement au stade de la phase aiguë de la maladie.

a. Période de 25 jours.

D'un certain nombre de plantes portant 8 à 10 feuilles on formait trois groupes. On inoculait les deux groupes avec le virus de la Mosaïque du Tabac en laissant le troisième groupe sain sous les mêmes conditions. Après une période de 25 jours l'un des deux groupes déjà infectés par le virus de la Mosaïque du Tabac était reinoculé par le virus X. En même temps on inoculait les plantes saines également par le virus X. C'est ainsi qu'on formait les trois groupes de plantes (MT), (X), et (C).

Dix jours après l'inoculation avec le virus X on observait chez les plantes (C) les premiers symptômes du Streak. Dans le présent cas l'évolution de la maladie n'était pas aussi rapide que dans le cas des infections simultanées. Les symptômes étaient moins graves, et les plantes revetaient un aspect un peu différent. Les feuilles manifestaient une panachure jaune-vert, les symptômes dus à la Mosaïque du Tabac étaient plus accentués—le virus étant hébergé dans les tissus des plantes pour une période très longue - et les nécroses des folioles et de la tige moins nombreuses. Les nécroses des feuilles entières étaient rares, et dans ce cas nous entendons comme phase aiguë de la maladie l'apparition d'un certain nombre de taches nécrotiques sur les feuilles, les pétioles, et la tige.

Le 19e jour après l'inoculation avec le virus X nous avons procédé au dosage des virus. Les résultats sont présentés dans le tableau XII.

TABLEAU XII

Résultats du dosage des deux virus chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac pendant la phase aiguë de la maladie.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
	3e stade	
(MT)	1 : 67	1 : 96
(CMT)	1 : 64	1 : 77
(X)	1 : 125	1 : 115
(CX)	1 : 96	1 : 96

Des résultats du tableau XII on constate que le virus de la Mosaïque du Tabac présente, par rapport à la matière sèche, le même taux tant chez les plantes infectées par lui seul que chez les plantes à infection mixte. Par rapport à la matière fraîche, il y a une diminution insignifiante de la concentration chez les plantes (C). Le virus X ne présente aucune augmentation chez les plantes à infection mixte par rapport au témoin. Par contre, on constate une diminution de 23 % et 17 % rapportée respectivement à la matière sèche et fraîche. Ces résultats permettent de conclure que dans le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac est installé dans la plante, depuis une période de 25 jours, la multiplication du virus X, inoculé à ce moment à la même plante, ne peut se faire avantageusement, mais au contraire elle est partiellement inhibée.

b. Période de 15 jours.

Dans ce cas nous avons expérimenté comme dans le cas précédent avec la seule variation que les plantes utilisées portaient le virus de la Mosaïque du Tabac pendant une période de 15 jours.

Les premiers syptômes de la maladie complexe ont été apparus le 14e jour après l'inoculation avec le virus X. Le 22e jour nous avons procédé à l'examen des plantes.

Du tableau XIII on constate que le développement du virus de la Mosaïque du Tabac n'est nullement inhibé par le virus X. Ce der-

nier, d'ailleurs, se multiplie également bien chez les plantes à infection mixte que chez les plantes infectées par lui seul.

TABLEAU XIII

Résultats du dosage des deux virus chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac pendant la phase aiguë de la maladie.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
	3e stade	
(MT)	1 : 40	1 : 60
(CMT)	1 : 46	1 : 60
(X)	1 : 24	1 : 24
(CX)	1 : 23	1 : 31

c. Période de 5 jours.

On pourrait supposer que le virus X eût été sous des meilleures conditions pour exploiter le virus de la Mosaïque du Tabac dans le cas où le premier était introduit à des plantes dans lesquelles le second virus n'avait pas achevé son développement. Pour verifier cette présomption nous avons expérimenté sur des plantes portant le virus de la Mosaïque du Tabac depuis 5 jour. Les plantes (C) avaient manifesté les premiers symptômes le 6[e] jour après l'inoculation avec le virus X. Le 9[e] jour les plantes présentaient la phase aiguë de la maladie et nous avons procédé, à ce moment, au dosage des virus. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XIV.

TABLEAU XIV

Résultats du dosage des deux virus chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac pendant la phase aiguë de la maladie.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
	3e stade	
(MT)	1 : 112	1 : 91
(CMT)	1 : 113	1 : 87
(X)	1 : 37	1 : 24
(CX)	1 : 28	1 : 22

On voit que, même dans le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac est introduit dans la plante 5 jours avant le virus X, le dernier ne peut pas en profiter.

Le dosage des virus indique que tous les deux se développent également chez les plantes à infection mixte et chez les témoins.

Avant de tirer les conclusions finales sur les cas étudiés, nous allons suivre la multiplication des deux virus dans une autre série d'expériences dans laquelle le virus de la Mosaïque de Tabac se développe chez des plantes préalablement infectées par le virus X.

III. MULTIPLICATION DES DEUX VIRUS CHEZ DES PLANTES PRÉALABLEMENT INFECTÉES PAR LE VIRUS X

D'un lot de plantes du même âge, présentant une homogéneité physiolosique et portant chacune 8 feuilles bien développées, on formait trois groupes. Les deux groupes étaient inoculés avec le virus X. Après un délai de 15 jours, l'un des deux groupes hébergeant le virus X était inoculé avec le virus de la Mosaïque du Tabac. Avec le même virus on inoculait aussi le troisième groupe de plantes saines. Treize jours après l'inoculation avec le deuxième virus les plantes qui avaient reçu les deux virus présentèrent les symptômes de la phase aiguë de la maladie; on a procédé alors au dosage des deux virus et à l'évaluation du pouvoir infectieux uniquement du virus de la Mosaïque du Tabac. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux XV, XVI et XVII.

TABLEAU XV

Résultats du dosage des deux virus chez des plantes préalablement infectées par le virus X pendant la phase aiguë de la maladie.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
	3e stade	
(MT)	1 : 97	1 : 86
(CMT)	1 : 45	1 : 45
(X)	1 : 26	1 : 18
(CX)	1 : 68	1 : 67

Des indications fournies par le tableau XV on constate que chez les plantes à infection mixte le virus X présente un taux 2,6 et 3,7 fois

TABLEAU XVI

Nombre de lésions et leurs logarithmes correspondants provenant du test sur le pouvoir infectieux des jus (MT) et (CMT) au 3e stade.

Groupes de plantes de N. glutinosa	$(MT)_1$		$(CMT)_1$		$(MT)_2$		$(CMT)_2$	
	Nombre de lésions	log	Nombre de lésions	log	Nombre de lésions	log	Nombre de lésions	log
	G *		D		G		D	
1 + 3	120	2,08	65	1,81	35	1,54	35	1,54
5 + 7	114	2,06	87	1,94	16	1,20	17	1,23
9 + 11	105	2,02	62	1,79	16	1,20	12	1,08
13 + 15	96	1,99	64	1,81	29	1,46	31	1,49
	D **		G		D		G	
2 + 4	109	2,04	68	1,83	29	1,46	48	1.68
6 + 8	53	1,72	44	1,64	24	1.38	22	1,34
10 + 12	57	1,76	54	1,73	13	1,11	8	0,90
14 + 16	47	1,67	75	1,88	27	1,43	28	1,45
Totaux		15.34		14.43		10,78		10,71

Log M = — 0,11835 ± 0,09822
M = 76 ± 15

* Moitié de feuille gauche ** Moitié de feuille droite.

TABLEAU XVII

Résultats d'évaluation du pouvoir infectieux du virus de la Mosaïque du Tabac au 3e stade.

	Pouvoir infectieux			
	Par rapport à la matière sèche		Par rapport à la matière fraîche	
	3e stade			
		%		%
(MT)	77	100	68	100
(CMT)	54 ± 11	76 ± 14	54 ± 11	79 ± 16

plus élevé – respectivement par rapport à la matière sèche et la matière fraîche – que celui mesuré chez les plantes ayant reçu le virus X seul. Par contre, le virus de la Mosaïque du Tabac présente, chez les plantes à infection mixte, un taux diminué de moitié comparativement à celui des plantes infectées par lui seul.

D'autre part, on voit dans le tableau XVII que le pouvoir infectieux du virus de la Mosaïque du Tabac dans le jus des plantes (MT) est supérieur à celui de la préparation provenant des plantes (CMT).

IV. MULTIPLICATION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE AUCUBA DE LA TOMATE ET DU VIRUS X CHEZ DES PLANTES SIMULTANÉMENT INFECTÉES PAR LES DEUX VIRUS

L'infection simultanée des plantes de Tomate par les deux virus ne provoquait pas le type classique du Streak mais une autre maladie caractérisée par un mélange de symptômes appartenant aux deux virus, parmi lesquels les symptômes provoqués par le virus de la Mosaïque Aucuba avaient une place prédominante, surtout au début de l'infection. Plus tard les plantes présentaient certaines taches nécrotiques; sur les feuilles, d'une forme différente de celles du Streak.

TABLEAU XVIII

Résultats du dosage du virus de la Mosaïque Aucuba de la Tomate et du virus X aux trois stades.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
	1er stade	
(MA) *	—	—
(CMA) **	—	—
(X)	—	—
(CX)	—	—
	2e stade	
(MA)	1 : 12,2	1 : 12
(CMA)	1 : 7,3	1 : 6
(X)	1 : 3,6	1 : 3
(CX)	1 : 7,3	1 : 6
	3e stade	
(MA)	1 : 85	1 : 90
(CMA)	1 : 48	1 : 44
(X)	1 : 24	1 : 24
(CX)	1 : 48	1 : 48

* Jus des plantes infectées par le virus de la Mosaïque Aucuba.
** » » » » » les deux virus ensemble.

Étant donné que le virus de la Mosaïque Aucuba se développe bien chez la Tomate nous avons pensé d'étudier la multiplication des deux virus inoculés simultanément.

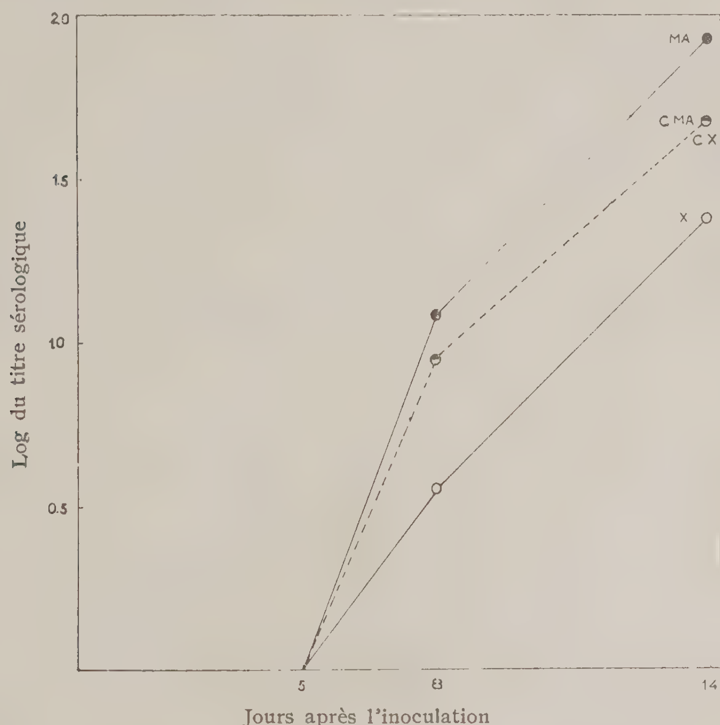


Fig. 3. Courbes de multiplication du virus de la Mosaïque Aucuba et du virus X chez des plantes infectées simultanément et isolement par les deux virus, rapportées à la matière sèche.

MA : virus de la Mosaïque Aucuba seul dans les plantes.
CMA : » » » » » chez les plantes à infection mixte.
X : » X seul dans la plante.
CX : » » chez les plantes à infection mixte.

Le dosage des virus était effectué à trois stades fixés arbitrairement et sans aucun rapport avec les symptômes des plantes (C), le 5[e], 8[e] et 14[e] jour après l'inoculation.

Pour l'évaluation quantitative du virus de la Mosaïque Aucuba nous avons utilisé de sérum anti-Mosaïque du Tabac.

L'expérience eut lieu au mois de mai sur 30 plantes portant chacune 8 à 10 feuilles. Les résultats sont résumés dans le tableau XVIII et ils se traduisent par les graphiques de la figure 3.

D'après les résultats du tableau XVIII le virus X se multiplie plus intensement chez les plantes à infection mixte, et à partir du 2e stade il présente une concentration double à celle évaluée chez les plantes témoins. Ce développement avantageux se réalise au détriment du virus de la Mosaïque Aucuba, dont la croissance est inhibée de moitié, chez les plantes à infection mixte par rapport aux témoins.

On constate donc dans ce cas, comme dans celui des infections mixtes et simultanées du virus X et du virus de la Mosaïque du Tabac, un développement plus intense du virus X avec la seule différence que la multiplication de celui-ci est plus intense en présence du virus de la Mosaïque du Tabac qu'en présence du virus de la Mosaïque Aucuba.

V. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les séries d'expériences que nous venons d'exposer ont mis en évidence un phénomène d'interférence entre les deux virus. L'interférence se manifeste par la multiplication plus intense du virus X, d'une part chez les plantes à infection mixte et simultanée et, d'autre part, chez les plantes infectées d'abord par le virus X et ensuite par le virus de la Mosaïque du Tabac. On n'observe pas le même phénomène dans le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac précède le virus X. La concentration du virus X, dans le cas des infections mixtes et simultanées, approche le double de celle des témoins dès qu' apparaissent les premiers symptômes de la maladie (7 à 9 jours après l'inoculation) et elle devient de 3 à 5 fois plus élevée pendant la phase aiguë de la maladie, c'est à dire, 11 à 14 jours après l'inoculation. Des résultats analogues ont été rapportés dans une publication antérieure (Zachos 1954). Par contre, le virus de la Mosaïque du Tabac, à moins qu'il ne précède le virus X d'au moins 5 jours, est inhibé et son titre sérologique aussi bien que son pouvoir infectieux, évalués aux 1er et 3e stades, présentent une chute au $^1/_2$ ou au $^1/_8$ par rapport aux témoins.

Rochow et Ross (1954a), étudiant l'interférence entre les mêmes virus chez le Tabac, constatent que la concentration du virus X est, chez les plantes infectées par les deux virus, quatre fois plus élevée que chez les témoins.

L'analyse des résultats de nos expériences conduit à admettre

l'existence d'un antagonisme entre les deux virus. Néanmoins, le phénomène ne revêt pas la forme connue d'antagonisme existant entre des souches appartenant au même virus. Dans ce dernier cas, une souche déjà installée dans la plante, empêche, partiellement ou totalement, la multiplication d'une autre souche apparentée. L'interprétation du phénomène est basée sur l'hypothèse plausible que les souches sérologiquement voisines occupent, dans la cellule, les mêmes places, lesquelles, une fois occupées par une souche, ne donnent plus à une autre souche la possibilité de s'installer et de se multiplier (Bawden 1950).

Dans notre cas, aucun des deux virus n'empêche l'installation ou la multiplication de l'autre. Il y a seulement un développement plus intense de l'un au détriment de l'autre. Les causes des phénomènes d'interférence entre virus non apparentés sont peu connues et toute interprétation reste au domaine des hypothèses. Ainsi Bennett (1951), afin d'interpréter la multiplication plus intense d'un virus en présence d'un autre, émet l'hypothèse que le métabolisme de la plante se modifierait par l'un d'eux de sorte qu'il y aurait une augmentation du matériel essentiel à la reproduction de l'autre. D'après une deuxième hypothèse, il est possible que l'un des virus provoque la neutralisation de substances inhibitrices au développement du second virus. Après la neutralisation de ces substances par le premier virus le second se multiplierait davantage que lorsqu'il serait seul dans la plante. A des hypothèses analogues s'appuyent Rochow et Ross (1951 a) pour interpréter les interférences observées entre le virus Y et X.

Dans le cas de la maladie complexe de la Tomate il n'y a pas uniquement une augmentation de la concentration du virus X, mais en même temps une inhibition partielle du virus de la Mosaïque du Tabac. Il est possible que le virus X exploite les chimismes ou les produits intermédiaires de la déviation du métabolisme cellulaire apparaissant pendant la reproduction du virus de la Mosaïque du Tabac et qui seraient essentiels à la synthèse de la molecule protéinique de ce dernier virus. Cette hypothèse est renforcée par l'observation que le virus X accroit pendant les périodes d'activité reproductive du virus de la Mosaïque du Tabac.

Les courbes de multiplication des deux virus chez les plantes à infection mixte et simultanée pourraient être interprétées de la façon suivante : Tout d'abord nous pensons que l'inhibition du virus de la Mosaïque du Tabac commence dans la feuille inoculée. L'étude de l'expansion des virus dans le cas des infections mixtes et simultanées

nous a permis de constater que le virus de la Mosaïque du Tabac passe de la feuille inoculée dans la tige principale 24 heures plus tard que lorsqu'il est seul. Ceci prouve qu'il est inhibé par le virus X. Les résultats du dosage des virus effectué 5 jours après l'inoculation (1er stade), révélant une concentration diminuée de moitié chez les plantes à infection mixte par rapport aux témoins, constituent une preuve de cette inhibition. Entre le 1er et le 2e stade le virus de la Mosaïque du Tabac, non dérangé par le virus X, se développe intensement et arrive à égaler la différence de concentration existant entre les plantes à infection mixte et les témoins. C'est ainsi qu'au 2e stade les deux groupes de plantes présentent le même titre sérologique. Le virus X, d'autre part, favorisé par la présence du virus de la Mosaïque du Tabac, se multiplie davantage et passe plus vite de la feuille inoculée dans la plante. Le dosage réalisé au 2e stade révèle une concentration deux fois plus élevée par rapport aux témoins A partir du 2e stade le contact des deux virus, déjà répandus à la partie supérieure de la plante, crée les conditions d'une nouvelle inhibition du virus de la Mosaïque du Tabac qui aboutit à une diminution de sa concentration par rapport aux témoins, et en même temps à une augmentation de la concentration du virus X.

On pourrait donc en déduire que dans le cas des infections mixtes et simultanées les phénomènes d'interférence se déroulent en deux phases. La première phase aurait lieu dans la feuille inoculée, où les virus s'installeraient à des endroits voisins. Le virus de la Mosaïque du Tabac, se développant plus rapidement que le virus X, créerait des conditions biochimiques favorables au développement de ce dernier virus qui se répand moins vite et se développe moins intensement lorsqu'il est seul. La seconde phase se réaliserait à partir du moment où les deux virus, étant répandus dans la plante, établissent de nouveau leur contact.

L'hypothèse avancée peut interpréter aussi les phénomènes d'interférence observés dans le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac s'inocule à des plantes préalablement infectées par le virus X. Le dernier virus étant installé dans la plante au moment où le virus de la Mosaïque du Tabac commence à se reproduire, a toutes les possibilités d'exploiter la série de réactions intermédiaires provoquées par lui au cours de son développement.

Dans le cas où le virus X se multiplie chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac, on n'observe pas le phénomène d'une multiplication plus intense du virus X. Dans

le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac se trouve dans la plante 25 ou 15 jours avant l'inoculation avec le virus X, il a le temps d'achever la synthèse de sa molécule protéinique. Il en résulte que lorsque le virus X se répand dans le feuilles (c'est à dire le 31e ou 21e jour), n'existent plus les conditions biochimiques qui favorisent son développement plus intence. Dans le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac précède le virus X de 5 jours, le dernier n'en profite nullement, car il se répand dans les feuilles supérieures de la plante le 11e jour environ après l'inoculation avec le virus de la Mosaïque du Tabac qui à ce moment se trouve à la phase finale de sa reproduction.

L'utilisation du virus de la Mosaïque Aucuba à la place du virus de la Mosaïque du Tabac, dans le cas des infections mixtes et simultanées, a fourni des résultats qui vérifient l'existence du même phénomène d'antagonisme entre les deux virus.

En considérant l'évolution de la maladie complexe nous constatons que les symptômes s'accentuent au fur et à mesure que la concentration du virus X augmente. Ceci pourrait conduire à l'hypothèse que les symptômes caractéristiques du Streak sont dus à la concentration augmentée du virus X. Bien que nous n'excluons pas absolument l'influence de la quantité du virus sur la nature des symptômes, nous considérons que l'influence exercée n'est par directe pour les raisons suivantes: Le dosage du virus X (Tableau V) chez les plantes infectées par lui seul, réalisé le 11e jour (3e stade), montre que la concentration du virus est supérieure à celle du même virus évaluée chez les plantes à infection mixte le 7e jour (2e stade). Pourtant chez ces dernières plantes les symptômes du Streak commencent à se manifester le 7e jour tandis que sur les plantes infectées isolement par le virus X on ne les observe même pas le 11e jour. Par ailleurs, dans le cas des infections simultanées du virus de la Mosaïque Aucuba et du virus X, bien que la concentration du second virus soit plus élevée chez les plantes à infection mixte, on n'observe pas des symptômes analogues à ceux du Streak.

Étant donné que les symptômes des viroses sont la conséquence d'un bouleversement profond du métabolisme des plantes nous ne pouvons pas être affirmatifs sur ce sujet. Nous avons l'opinion que la concentration élevée n'est pas, en elle-même, la cause de la production des symptômes. Il est probable que le développement simultané des deux virus dans la plante provoque soit l'épuisement des cellules affectées soit la production de substances diverses provoquant les symptômes des nécroses.

CHAPITRE V

RELATIONS ENTRE L'ACTIVITÉ DE CERTAINS SYSTÈMES OXYDASIQUES ET LA MULTIPLICATION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC ET DU VIRUS X

Dans le chapitre précédent, l'étude de l'interférence entre les deux virus, dans la maladie complexe de la Tomate, a conduit à des constatations qui rendent nécessaire la recherche du problème en corrélation avec la physiologie pathologique de la cellule. Par ailleurs, le mode suivant lequel le virus de la Mosaïque du Tabac favorise le développement du virus X rapproche le problème à celui de la synthèse de la protéine-virus. La recherche sur les activités métaboliques de la cellule envahie par les virus aiderait, d'une part à mieux comprendre le mécanisme des interférences observées, et, d'autre part, d'eclaircir éventuellement certains aspects du problème général de la multiplication des virus.

On sait bien, aujourd'hui, que la multiplication des virus dans les tissus végétaux provoque des modifications très importantes du métabolisme et que les systèmes oxydasiques sont particulièrement touchés. Avant l'entrée du virus dans la cellule, ce sont les besoins de celle-ci qui déterminent l'activité des enzymes. Mais à partir du moment où une unité virologique modifie les activités biochimiques de la cellule, et les oriente vers la reproduction démesurée d'une nucleoprotéine pathologique, il serait intéressant de savoir ce qui se passe dans le domaine des oxydases. Cette pensée nous a conduit à étudier systématiquement l'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique, de la Polyphénoloxydase, de la Peroxydase, et de la Catalase, par rapport à la multiplication des deux virus.

La question des enzymes oxydasiques n'est pas nouvelle et Woods, en 1899, fut le premier à signaler un dérangement des systèmes de l'Oxydase et de la Peroxydase chez le Tabac infecté par le virus de la Mosaïque du Tabac et à mettre en évidence une activité oxydasique élevée chez les taches de couleur vert clair. Le même auteur dans des travaux ultérieurs attribue l'accumulation d'amidon, chez les mêmes taches, à l'inhibition de l'activité de la diastase provoquée par les oxydases (Woods 1900, 1902).

Sujuki (1902) trouve que les feuilles de Mûrier attaqué par un virus provoquant le nanisme, très répandu en Japon, contiennent une quantité augmentée d'Oxydase, de Peroxydase et de Catalase.

Hasselbring et Alsberg (1911) constatent une activité oxydasique élevée des jus extraits des Choux et des Betteraves atteints des maladies à virus et ils considèrent qu'elle est due à la diminution d'anti-oxydase.

Doby (1911 a), en étudiant l'activité de l'Oxydase, de la Peroxydase et de la Catalase chez des tubercules de Pomme de terre infectés par le virus de l'Enroulement, n'a constaté aucune différence entre les tubercules malades et sains. Cependant, dans une étude ultérieure il trouve que l'activité des trois enzymes est plus élevée chez les tubercules malades par rapport aux tubercules sains (Doby 1911 b).

D'après Pantanelli (1912) l'activité oxydasique des jeunes feuilles de vigne attaquée par le virus de la Dégénérescence Infectieuse est plus élevée que celle des témoins.

Bunzel dans une série de recherches très intéressantes sur l'activité de l'Oxydase et de la Peroxydase a pu démontré, en employant des méthodes manometriques, qu'il y a une activité oxydasique plus élevée par rapport aux témoins a) chez les feuilles, les graines et racines de Betteraves infectées par le virus du Curly Top (1912 a, 1912 b, 1913 a, 1913b), b) chez les feuilles et les tubercules de Pomme de terre attaqués par le virus du Curly Dwarf (1914) et c) chez les feuilles et les racines d'Épinard infectées par le virus de la Mosaïque du Concombre (1918). Le même auteur a aussi constaté une augmentation d'Oxydase chez des plantes de Betterave saines dont la croissance était retardée soit par la sécheresse, soit par un excès d'irrigation, soit enfin par d'autres causes physiologiques (1912 a, 1913 b).

Chapman (1917), en étudiant l'activité oxydasique des feuilles de Tomate et de Tabac infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac, constate une augmentation de l'activité de l'Oxydase et de la Peroxydase et une diminution de 50 % de celle de la Catalase.

Boas (1919) observe aussi un dérangement à l'activité de la Catalase dans les différentes parties de la tige chez certaines variétés de Pomme de terre infectées par le virus de l'Enroulement.

Chez des Tabacs infectés par le virus de la Mosaïque du Tabac, Harvey (1920) trouve que l'activité de la Catalase est diminuée, tandis que le pH du jus augmente.

Caldwell (1934) constate que la respiration chez des plantes de Tomate attaquées par le virus de la Mosaïque Aucuba est plus in-

tense, et il attribue le phénomène à une intensité de l'activité des enzymes oxydasiques.

Hills et McKinney (1942) ont constaté que l'activité de l'Oxydase et de la Peroxydase chez des Tabacs hébergeant le virus de la Mosaïque du Tabac est inférieure à celle des témoins 23 jours après l'inoculation.

Woods et DuBuy (1941, 1942) considèrent que la respiration chez les plantes de Tabac saines se réalise par trois systèmes respiratoires A, B, et C, dont les deux premiers sont sensibles au cyanure de potassium. Ces systèmes fonctionnent de telle façon que 48 à 72 heures après l'entrée du virus de la Mosaïque du Tabac dans la cellule le système A est inhibé tandis que le système C s'intensifie. Par contre, le système B n'est du tout influencé.

Enfin une activité accrue de la Cytochrome-oxydase, de la Peroxydase et de la Tyrosinase, chez les feuilles et les tubercules du Dahlia atteints des maladies à virus fut observée par Martin (1954).

On constate des travaux rapportés plus haut que des plantes diverses, atteintes de maladies à virus, manifestent, en général, une activité oxydasique supérieure à celle des plantes saines. On observe que tous les enzymes s'intensifient sauf la Catalase qui, dans la majorité des cas, présente une activité inférieure à celle des plantes saines.

Une recherche systématique sur les oxydases fut réalisée par Wynd (1942) qui a étudié la fluctuation de l'activité de l'Oxygenase, de la Peroxydase, et de la Catalase chez les feuilles de Tabac infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac pendant une période de 21 jours. Il a constaté que les premiers jours après l'inoculation l'activité de l'Oxygenase est supérieure à celle des témoins. Le 6e jour cette activité présente une chute et devient inférieure à celle des témoins. Ensuite elle augmente, atteint son maximum le 14e jour, et à la fin de la période revient au niveau physiologique. La fluctuation de l'activité de la Peroxydase n'est pas aussi bien marquée que celle de l'Oxygenase. En ce qui concerne l'activité de la Catalase, elle se trouve, au début, au niveau de celle du témoin. Elle présente ensuite une légère chute. Le 8e jour après l'inoculation elle atteint un niveau maximum et puis un deuxième entre le 16e et 18e jour.

L'analyse des recherches réalisées dans le domaine des oxydases prouve qu'aucune étude n'a été entreprise sur la fluctuation de l'activité oxydasique par rapport à la multiplication des virus. Nous avons donc entrepris cette étude et nos recherches ont porté sur le virus de la Mosaïque du Tabac et le virus X, envisagés tant isolement qu'en infection mixte chez la Tomate.

Les enzymes oxydasiques étudiés appartiennent au groupe des biocatalyseurs qui opèrent les réactions de la respiration. Néanmoins, leur rôle précis, dans la physiologie de la cellule, n'est pas encore pleinement élucidé.

La Polyphénoloxydase est considérée, par certains auteurs, comme un enzyme de la chaîne respiratoire. Ainsi, Boswell et Whiting (1938) admettent que les 2/3 de la respiration chez les tubercules de la Pomme de terre dépendent de la Polyphénoloxydase. De même Baker et Nelson (1943) ont mis en evidence que les 85 % de l'oxygène absorbé, entre dans les chimismes de la cellule par le système de la Polyphénoloxydase. Par ailleurs, Sizer (1953) souligne l'importance de l'inactivation oxydative de certaines protéines provoquée par la Polyphénoloxydase et la Peroxydase et considère que ceci constitue un control de l'activité de la protéine chez les organismes vivants.

Quant à l'Oxydase de l'acide ascorbique, il y a aussi certaines données qui nous permettent de la considérer comme un enzyme respiratoire. Le point qui reste à élucider concerne la substance qui fournit l'hydrogène nécessaire à la réduction de l'acide deshydroascorbique. D'après James et Cragg (1943) cette réduction est effectuée chez les plantes d'Avoine par les acides lactique, glycolique et tartrique. En tout cas, Waygood (1950) considère l'Oxydase de l'acide ascorbique comme une substance fonctionnelle dans la respiration des plantes de Blé.

Le rôle de la Peroxydase est assez obscur. Elle peut, en présence du peroxyde d'hydrogène formé dans les tissus, operer l'oxydation d'un grand nombre de phénols, d'amines aromatiques, et d'autres produits chimiques. Malgré le manque de preuves expérimentales, Sizer (1953) considère que cette oxydase pourrait participer à la respiration de la cellule, étant donné qu'elle a la possibilité d'oxyder certains produits d'oxydo - réductions intermédiaires, comme l'acide ascorbique et les polyphénols.

La Catalase est considérée comme un enzyme protecteur des cellules, provoquant la décomposition du peroxyde d'hydrogène qui est toxique pour elles. D'après Keilin et Hartee (1945) son rôle biologique le plus important serait l'oxydation des alcools en aldeydes. Theorell, cité par Lardy (1950), attribue le même rôle à cet enzyme et il désigne son action «peroxydasique» en entendant que dans ce cas la Catalase agit comme la Peroxydase. Selon Chance (1951), le complexe Catalase - peroxyde d'hydrogène réagit tantôt avec une molécule de peroxyde d'hydrogène qu'il décompose, et dans ce cas on a une réaction

«catalasique», tantôt avec une molécule d'alcool et on a alors la réaction «peroxydasique». Les deux enzymes Catalase et Peroxydase, en dehors qu'ils appartiennent au même groupe, quant au métal du groupement prosthétique, présentent une action catalytique similaire. D'après Chance et collab. (1952), l'union du Fe de l'hématine avec la première molécule du peroxyde d'hydrogène se réalise absolument de la même façon dans le cas de la Catalase que dans celui de la Peroxydase. Par ailleurs, Keilin et Hartee (1945) considèrent que les deux enzymes, étant les seuls qui réagissent avec le peroxyde d'hydrogène, excluent l'un l'autre.

Bien qu'il y ait encore plusieurs points qui ne soient pas eclaircis en ce qui concerne le rôle physiologique des oxydases étudiées, on a cependant certaines indications qui permettent les associer à l'activité de la respiration. La cytochrome - oxydase, d'ailleurs, qui est évidemment un enzyme de la chaîne respiratoire, présente une activité accrue chez les feuilles et les tubercules du Dahlia atteints de maladies à virus (Martin 1954).

MÉTHODES ET MATÉRIEL

1. Matériel et méthode expérimentale. Les plantes de Tomate utilisées appartenaient à la variété maréchal Joffre et se préparaient comme nous avons rapporté dans les chapitres III et IV. Pour chaque expérience on choisissait 48-50 plantes uniformes, du même âge, et on formait quatre groupes de 12 plantes. Les plantes du premier groupe recevaient le virus de la Mosaïque du Tabac (MT), les plantes du deuxième groupe le virus X (X), et celles du troisième groupe les deux virus inoculés simultanément (C). Les plantes du quatrième groupe restaient saines pour servir comme témoins (T).

L'inoculation s'effectuait sur la foliole terminale de la 5e feuille à partir du sommet de la plante. L'activité oxydasique était mesurée aux stades suivants:

1er stade: 5 jours après l'inoculation.
2e » : au début de l'apparition des premiers symptômes chez les plantes à infection mixte, soit 7 à 9 jours après l'inoculation.
3e » : pendant la phase aiguë de la maladie complexe, soit 11 à 13 jours après l'inoculation.
4e » : 19 à 21 jours après l'inoculation.

Pour tous les examens on prélevait de chaque groupe trois plantes dont on utilisait la partie entière au dessus de la feuille inoculée. Les trois plantes, découpées en petits fragments et mélangées uniformement, ne constituaient qu'un seul échantillon. L'extraction du jus était faite à l'aide d'une presse à main. Le jus était débarassé de petits fragments par une centrifugation de 15 minutes à 3000 tours /min. En ce qui concerne la Catalase, on extrayait le jus par broyage au mortier en présence de tampon 0,067 phospate, pH 6,8.

La détermination de l'activité était faite après l'obtention du jus et, en prenant en considération la vitesse de l'inactivation des enzymes, on donnait la priorité à la Catalase. On mesurait ensuite l'activité de la Polyphénoloxydase et de l'Oxydase de l'acide ascorbique et à la fin celle de la Peroxydase.

2. Évaluation de l'activité enzymatique.

Oxydase de l'acide ascorbique

L'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique était mesurée à l'aide de l'appareil de Warburg par la méthode de Powers, Stanley et Dawson (1944) légèrement modifiée.

Dans les fioles de l'appareil, ayant une capacité de 20 centimètres cubes environs, on mettait:

Fiole I. 1. Dans la partie principale:
- a. 1 ml d'une solution de gélatine à 5 mg/ml.
- b. 1 ml d'une solution tampon 0,1 M acide citrique—0,2 M phosphate disodique, pH 6.
- c. 1 ml de jus.

2. Dans le bras latéral: 1 ml d'une solution d'acide ascorbique à 5 mg/ml.

Fiole II. Témoin. Elle renfermait les substances de la Fiole I excepté la solution de l'acide ascorbique qui était remplacée par une quantité égale de solution tampon.

Polyphénoloxydase

Dans le cas de la Polyphénoloxydase on a employé la méthode de Miller et Dowson (1941).

Le contenu des fioles était le suivant:

Fiole I. 1. Dans la partie principale:
- a. 1 ml d'une solution de gétatine à 5 mg/ml.
- b. 1 ml d'une solution tampon 0,1 M acide citrique—0,2 M phosphate disodique, pH 6.
- c. 1 ml de jus.

2. Dans le bras latéral: 1 ml d'une solution de pyrocatéchol à 4 mg/ml.

Fiole II. Témoin. La solution de pyrocatéchol était remplacée par une quantité égale de solution tampon.

La réaction avait lieu à la température de 25° C, l'absorption de l'oxygène étant lue toutes les deux minutes pendant 30 minutes dans le cas de l'Oxydase de l'acide ascorbique et 20 minutes dans celui de la polyphénoloxydase. On mesurait simultanément l'activité des jus provenant de plantes (MT), (X), (C) et (T).

Pour tous les détails de la technique concernant l'appareil de Warburg nous avons suivi les indications données par Umbreit, Burris et Stauffer (1951).

Peroxydase

Pour la détermination de l'activité de la Peroxydase nous avons utilisé la méthode classique de Willstäter et collab. modifiée par Sumner et Gjessing (1943).

Dans un erlenmeyer de 125 ml on plaçait:

a. 2 ml d'une solution de pyrogallol à 50 pour mille.
b. 2 ml d'une solution tampon 0,5 M phosphate monopotassique-phosphate disodique, pH 6.
c. 1 ml d'eau oxygenée à 1 pour cent.
d. 15 ml d'eau distillée.

Au temps 0 on ajoutait 0,2 à 0,5 ml de jus contenant l'enzyme. On laissait agir pendant 5 minutes en agitant les fioles. A la fin de la 5e minute on inactivait l'enzyme en ajoutant 5 ml de SO_4H_2 2N. La purpurogalline formée, par l'oxydation du pyrogallol, était extraite par 50 ml d'ether à 2 portions et mesurée au spectrophotomètre Beckmann à 5000 Å. La courbe étalon était établie à l'aide de purpurogalline.

Catalase

Afin d'évaluer l'activité de la Catalase nous avons utilisé la méthode de Euler et Josephson citée par Sumner et Somers (1953).

Dans un erlenmeyer on plaçait 50 ml de H_2O_2 0,01 N dans de tampon 0 067 M phosphate, pH 6,8 et on le posait dans un bain de glace pour abaisser la température de la solution à 0° C. On ajoutait alors 1 ml de jus contenant l'enzyme et on agitait le contenu rapidement. A l'aide d'une pipette on prélevait 5 ml et on les plaçait dans un autre erlenmeyer contenant 5 ml de SO_4H_2 2N. On dosait par suite le peroxyde d'hydrogène aux temps de 3, 6, 9 et 12 minutes. En employant l'équation $Ks = \frac{1}{T} \log_{10} \frac{A}{A-X}$, dans laquelle Ks représente la constante de la réaction, T le temps, A la quantité initiale de peroxyde d'hydrogène et A-X celle mesurée à chaque temps, on calculait la valeur Ks aux temps de 3, 6, 9 et 12 minutes et par extrapolation on avait la constante de la réaction au temps 0.

3. Expression des résultats. Le but de la présente recherche n'est pas l'étude de la physiologie des enzymes en elle-même. Nous avons voulu comparer l'activité oxydasique des plantes virosées et saines au cours de la multiplication des virus. Par conséquent, les ré-

sultats que nous donnons ci-dessous n'expriment pas des valeurs absolues, mais un pourcentage de l'activité oxydasique de la plante saine, qui sert comme témoin. D'autre part, quoique les conditions expérimentales sont suffisamment controlées il y a plusieurs facteurs qui peuvent influencer l'évolution de l'activité enzymatique dans une série de plantes pendant les différents stades de la maladie, et la façon que nous avons adoptée de présenter nos résultats en pourcentage exclue les fluctuations probables qui pourraient rendre difficile la comparaison demandée.

Les résultats sont calculés par rapport à 100 milligrammes de matière sèche et à 1 gramme de matière fraîche.

Les graphiques des figures 4 à 12 sont construits d'après les estimations en matière sèche.

I. EXPÉRIENCES SUR L'ACTIVITÉ DE L'OXYDASE DE L'ACIDE ASCORBIQUE

Les essais sur l'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique étaient effectués aux mois de novembre-décembre sur un nombre de 48 plantes portant chacune 8 feuilles bien développées.

Les résultats de l'expérience sont condensés dans le tableau XIX et le graphique de la figure 4.

En analysant ces résultats nous constatons que l'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique chez les plantes des trois groupes (MT), (X) et (C), est au bout de 5 jours après l'inoculation inférieure à

TABLEAU XIX

Activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique chez les plantes (MT), (X), (C), et (T) déterminée aux quatre stades.

Groupes de plantes	Absorption d'O_2 en µl							
	par rapport à la matière sèche				par rapport à la matière fraîche			
	1er stade	2e stade	3e stade	4e stade	1er stade	2e stade	3e stade	4e stade
(MT)	79,3	102,4	136	77	78,4	102	120	86
(X)	80	98,1	108	75,4	77	96,3	88	84,6
(C)	93,8	118	123	—	78,4	113	134	—
(T)	100	100	100	100	100	100	100	100

celle des plantes saines. Au 2e stade, c'est à dire 8 jours après l'inoculation, l'activité de l'oxydase chez les plantes hébergeant le virus X reste encore inférieure à celle des témoins. Par contre, chez les plantes infectées d'une part par le virus de la Mosaïque du Tabac et d'autre part par les deux virus ensemble, elle dépasse celle des témoins.

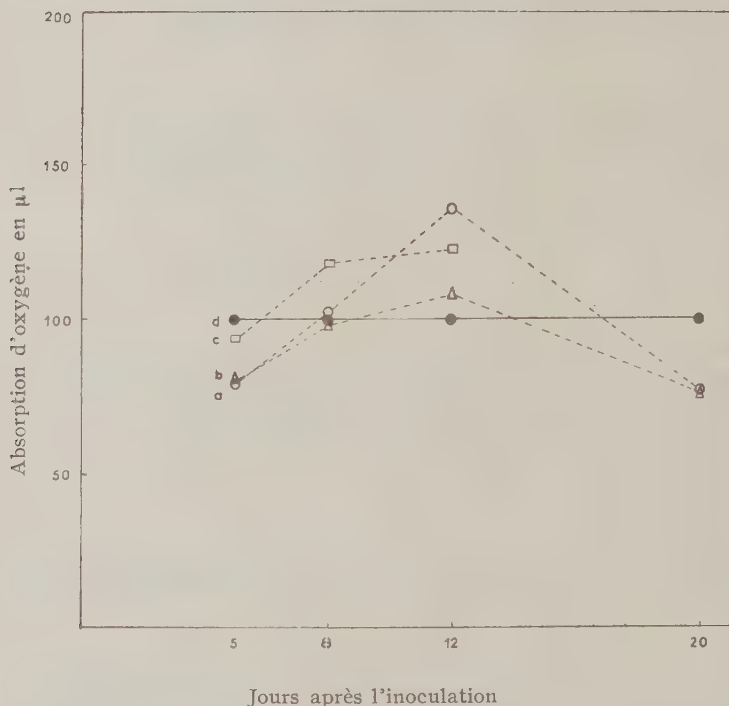


Fig. 4. Activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique chez des plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac (a), X (b) et par les deux virus simultanément (c) par rapport à celle de plantes saines (d).

Au 3e stade, soit 12 jours après l'inoculation, l'activité de l'enzyme, tant chez les plantes infectées par les deux virus isolement que chez les plantes à infection mixte, atteint un niveau maximum. Ensuite elle diminue régulièrement et le 20e jour après l'inoculation elle tombe à une valeur inférieure à celle fournie par les plantes témoins. La détermination de l'activité est interrompue après le 3e stade (phase aiguë de la maladie) chez les plantes à infection mixte.

Sous les mêmes conditions expérimentales l'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique chez les plantes infectées par le virus X est inférieure à celle présentée par les plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac pendant tous les stades de la maladie. Chez les plantes portant les deux virus ensemble on observe une activité enzymatique plus intense que celle des plantes infectées par les deux virus seuls. Ceci est très net aux 1er et 2e stades. Au stade suivant, l'activité présentée par les plantes à infection mixte est, en se rapportant à la matière sèche, inférieure à celle des plantes hébergeant le virus de la Mosaïque du Tabac. S'il en est ainsi et s'il ne s'agit pas d'une erreur expérimentale, on pourrait soutenir que cette diminution est due au fait que les plantes à infection mixte, à la phase aiguë de la maladie, présentent un certain nombre de feuilles desséchées; or une partie de la quantité de l'enzyme peut être détruite dans les tissus des feuilles mortes.

L'Oxydase de l'acide ascorbique, déterminée d'abord par Szent Györgyi (1931) chez les Choux, et par Tauber et collab. (1935) chez une espèce de cucurbitacées (Hubbard Squash), a été décelée plus tard chez d'autres plantes. D'après nos connaissances elle n'a pas été trouvée chez la Tomate. Chakraborty et Guha (1937), après avoir examiné la teneur en oxydase de plusieurs plantes, rapportent que la Tomate n'en contient pas. Ces auteurs ont probablement examiné des fruits de Tomate car ils parlent d'analyses faites sur des produits d'alimentation.

Par ailleurs, l'acide ascorbique, en dehors de son oxydation directe, provoquée par l'oxydase en question, peut être oxydé indirectement, d'une part par les enzymes qui forment des quinones comme la Tyrosinase et la Peroxydase et, d'autre part, par la Cytochrome oxydase.

Afin de confirmer que l'absorption d'oxygène mesurée dans nos expériences est due à l'oxydation directe de l'acide ascorbique par l'oxydase spécifique nous avons effectué les tests suivants :

De quatre plantes de Tomates saines, ayant à peu près l'âge de celles que nous utilisions dans les expériences, nous avons prélevé la partie dont nous nous servions pour la détermination des oxydases et nous avons préparé un melange homogène. Le jus était obtenu comme précédemment. A l'aide de l'appareil de Warburg nous avons mesuré l'activité oxydasique du jus dans quatre fioles renfermant les substances ci-dessous :

Fiole I.

a 0,2 ml d'une solution de KOH à 10 pour 100.

b. 1 ml d'une solution de gélatine à 5 mg/ml.

c. 1 ml d'une solution tampon 0,1 M acide citrique - 0,2 M phosphate disodique, pH 6.
d. 1 ml de jus.
e. 1 ml d'une solution d'acide ascorbique à 5 mg/ml.

Fiole II. Les substances de la Fiole I, en plus 1 mg de 8 - hydroxyquinoline*.

Fiole III. Les substances de la Fiole I, excepté la solution de l'acide ascorbique qui était remplacée par la même quantité d'une solution de pyrocatéchol à 4 mg/ml.

TABLEAU XX

Absorption d' O_2 en µl dans les Fioles I, II, III et IV.

Temps en minutes	Oxydase de l'acide ascorbique		Polyphénol-oxydase	Témoin
	Substrat : l-acide ascorbique		Substrat : pyrocatéchol	Substrat : solution tampon
	Sans 8-Hydroxyquinoline Fiole I	Avec 8-Hydroxyquinoline Fiole II	Fiole III	Fiole IV
0	0	0	0	0
2	4,6	3,1	7,6	1,6
4	9,3	4,6	15,2	1,6
6	10,3	7,7	19,7	3,2
8	18,5	7,7	22,8	3,2
10	21,6	9,3	22,8	3,2
12	27,8	12,3	24,3	3,2
14	34	13,9	24,3	3,2
16	38,6	15,4	27,3	4,8
18	41,7	15,4	27,3	4,8
20	46,3	17	27,3	4,8
22	51	17	27,3	4,8
24	57,1	18,5	27,3	4,8
26	61,8	20	27,3	4,8
28	64,9	20	27,3	4,8
30	67,9	20	27,3	4,8

* D'après Stotz, Harrer et King (1937), la 8 - hydroxyquinoline constitue un inhibiteur de l'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique.

Fiole IV. Les substances de la Fiole I, excepté la solution de l'acide ascorbique qui était remplacée par une quantité égale de la solution tampon.

Les mesures étaient faites à la température de 25° C pendant 30 minutes.

Les résultats du test sont présentés dans le tableau XX et les graphiques de la figure 5.

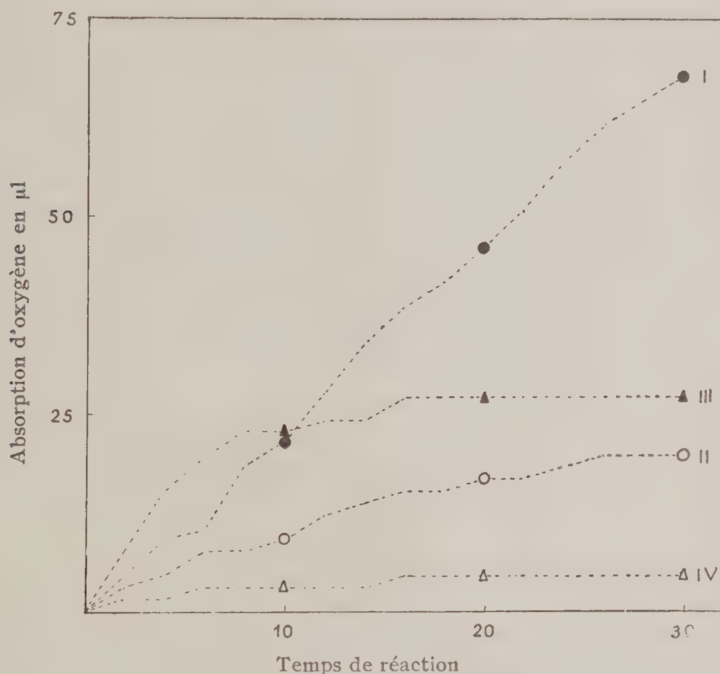


Fig. 5 Activité enzymatique dans les fioles I, II, III et IV.

I. Oxydase de l'acide ascorbique.
II. » » » » + substance inhibitrice.
III. Polyphénoloxydase.
IV. Témoin (absorption libre d'oxygène).

L'analyse des données du tableau XX nous permet de constater que la Fiole I, dans laquelle nous supposons que l'Oxydase de l'acide ascorbique réagit seule, a présentée une absorption d'oxygène de 63,1 µl. Dans la Fiole II, où nous avons mis la substance inhibitrice, l'absor-

ption d'oxygène a monté seulement à 15,2 μl. Il y a donc une inhibition de 76 %. Cette inhibition de l'activité enzymatique révèle la présence de l'Oxydase de l'acide ascorbique. Dans la Fiole III l'activité de la Polyphénoloxydase est exprimée par une absorption de 22,5 μl. Ceci prouve que l'activité de cet enzyme, même dans le cas d'un substrat spécial, est très faible; il n'est donc pas probable que la Polyphénoloxydase puisse former des quinones provoquant l'oxydation de l'acide ascorbique dans la Fiole I. Si l'absorption d'oxygène de la Fiole I était due à des quinones provenant de l'activité peroxydasique, celles-ci devraient exister aussi dans la Fiole II, dans laquelle il y a la substance inhibitrice qui, comme nous avons démontré, ne provoque qu'une inhibition très faible de l'activité de la Peroxydase. Le dernier a été démontré par deux tests dans lesquels l'activité de la Peroxydase était mesurée sur le même jus avec et sans l'addition d'8-hydroxyquinoline. Les résultats du premier test ont révelé une inhibition de 14,6 % et du second de 12 %. Cette inhibition, même si elle ne tombe pas dans les limites de l'erreur expérimentale, peut être considerée comme insignifiante.

Les epreuves effectuées prouvent donc que l'oxydation de l'acide ascorbique signalée dans la Fiole I est due à la présence de l'Oxydase de l'acide ascorbique.

En ce qui concerne l'interférence de la Cytochrome-oxydase dans le cas de l'oxydation de l'acide ascorbique, nous considérons que le mode d'extraction du jus, ainsi que les parties de la plante utilisées dans nos expériences, excluent la présence de l'enzyme dans le jus.

II. EXPÉRIENCES SUR L'ACTIVITÉ DE LA POLYPHÉNOLOXYDASE

Afin d'étudier l'activité de la Polyphénoloxydase nous avons effectué plusieurs essais. Nous exposons ici les résultats d'une expérience qui a eu lieu au mois de mars.

Les résultats résumés dans le tableau XXI et les graphiques de la figure 6 montrent que l'activité de la Polyphénoloxydase trace presque la même courbe que l'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique. Au 1er stade l'activité, tant chez les plantes infectées par le virus X que chez les plantes à infection mixte, est inférieure à celle des témoins. Chez les plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac l'activité de l'enzyme se trouve au niveau de l'activité présentée par les témoins. Ceci s'explique si l'on prend en considération l'influence de la température plus haute qui a favorisé l'expansion plus

TABLEAU XXI

Activité de la Polyphénoloxydase chez les plantes (MT), (X), (C), et (T) déterminée aux quatre stades.

Groupes de plantes	Absorption d'O_2 en µl							
	par rapport à la matière sèche				par rapport à la matière fraîche			
	1er stade	2e stade	3e stade	4e stade	1er stade	2e stade	3e stade	4e stade
(MT)	102,6	168	170	155	100	246	200	171
(X)	36,1	125	155	140	60	154	161	152
(C)	61,1	181	256	—	60	284,6	205	—
(T)	100	100	100	100	100	100	100	100

rapide du virus. En effet, on a eu au 1er stade le symptôme de l'«enroulement» qui, comme nous avons signalé ailleurs, apparaît entre le 6e et le 7e jour après l'inoculation. Il est donc évident que chez les plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac, bien que nous déterminions l'activité enzymatique du 1er stade, en réalité celle-ci correspondait au 6e ou 7e jour. C'est pour cette raison que l'activité se présente plus élevée. Au 2e stade, soit 8 jours après l'inoculation, chez les trois groupes de plantes infectées, l'activité de la Polyphénoloxydase dépasse celle des plantes saines pour atteindre son niveau maximum au 3e stade. A ce dernier stade l'activité enzymatique dépasse celle des témoins chez les plantes (MT) de 70°/₀, chez les plantes (X) de 55°/₀, et chez les plantes (C) de 156°/₀. Puis elle diminue régulièrement et au 4e stade tombe à une valeur qui reste supérieure à celle fournie par les plantes-témoins.

En comparant l'activité enzymatique des plantes de trois groupes (MT), (X), et (C) nous observons, comme dans le cas de l'Oxydase de l'acide ascorbique, que l'activité mesurée chez les plantes à infection mixte est plus élevée que chez les plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac et que la dernière est supérieure à l'activité évaluée chez les plantes hébergeant le virus X.

Les données sur l'activité de la Polyphénoloxydase corroborent absolument les courbes de l'Oxygenase[1] obtenues par Wynd (1943).

[1] Le terme Oxygenase employé d'abord par Chodat et Bach, a été proposé par Onslow (1920) pour désigner l'enzyme qui catalyse l'oxydation des substances analogues au pyrocatéchol. Puisque la Peroxydase agit sur des substrats voisins, le même auteur (1931) a précisé que l'Oxygenase est étroitement

La fluctuation de l'activité enzymatique constatée par cet auteur chez

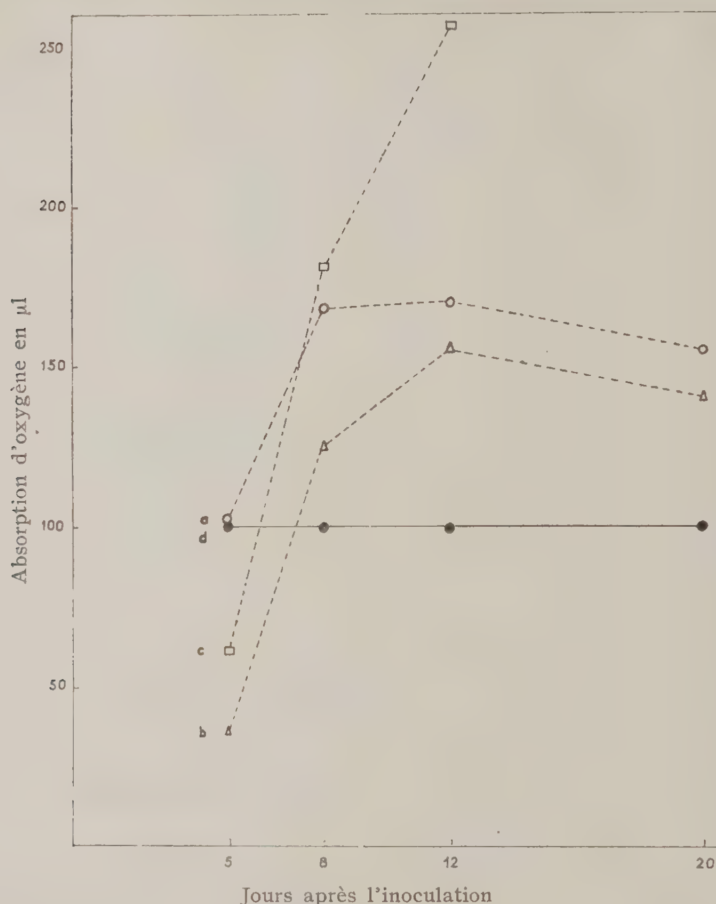


Fig 6. Activité de la Polyphénoloxydase chez des plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac (a), X (b) et par les deux virus simultanément (c) par rapport à celle des plantes saines (d).

les feuilles de Tabacs infectés par le virus de la Mosaïque du Tabac

---

liée à la Tyrosinase. Étant donné que Wynd (1943) donne le même sens à l'Oxygenase et qu'il a en plus utilisé comme substrat le paraphenylenediamine, propre à l'activité de la Tyrosinase, nous croyons que l'Oxydase étudiée par lui et la Polyphénoloxydase déterminée par nous sont identiques D'autre part, Onslow (1921) a déjà constaté l'existence d'Oxygenase chez les plantes de Tomate.

a été constatée par nous dans le cas d'analyse des plantes entières, tant pour le virus de la Mosaïque du Tabac que pour le virus X ainsi que pour les deux virus agissant de concert.

III. EXPÉRIENCES SUR L'ACTIVITÉ DE LA PEROXYDASE

L'activité de la Peroxydase a été étudiée dans plusieurs expériences effectuées à des saisons différentes. Les courbes d'activité obtenues ne présentent que de différences insignifiantes, dues notamment aux plantes utilisées qui ne pouvaient être, dans tous les essais, physiologiquement identiques. C'est ainsi que dans le tableau XXII nous donnons la valeur moyenne de cinq expériences.

Les résultats du tableau XXII, traduits par les graphiques de la figure 7, révèlent le même phénomène que nous avons constaté dans le cas des enzymes précédents.

TABLEAU XXII

Activité de la Peroxydase chez les plantes (MT), (X), (C) et (T), déterminée aux quatre stades.

Groupes de plantes	Moyenne de cinq expériences — purpurogalline en γ/ml — par rapport à la matière sèche				par rapport à la matière fraîche			
	1er stade	2e stade	3e stade	4e stade	1er stade	2e stade	3e stade	4e stade
(MT)	81,6	116,6	134,1	75	84,6	134,5	134,2	103,9
(X)	85,8	95	112,5	82,5	90,7	115,6	110,4	86,1
(C)	83,1	127	101	—	93	143,2	114	—
(T)	100	100	100	100	100	100	100	100

L'activité de la Peroxydase au 1er stade est chez toutes les plantes infectées inférieure à celle des témoins. Ensuite elle commence à augmenter, elle devient supérieure à celle des témoins, elle atteint son niveau maximum, au 2e stade chez les plantes à infection mixte et au 3e stade chez les plantes infectées par chacun des deux virus, et enfin au 4e stade elle revient à une valeur inférieure à celle fournie par les plantes saines. Au moment où l'activité atteint son maximum

chez les plantes (MT), (X) et (C), elle dépasse celle des témoins respectivement de 34,1 %, 12,5 % et 27 %.

On observe, encore une fois, dans le cas de la Peroxydase que l'activité enzymatique chez les plantes à infection mixte est supérieure à l'activité mesurée chez les plantes envahies par le virus de la Mosaïque du Tabac et celle-ci plus élevée que l'activité évaluée chez les plantes infectées par le virus X.

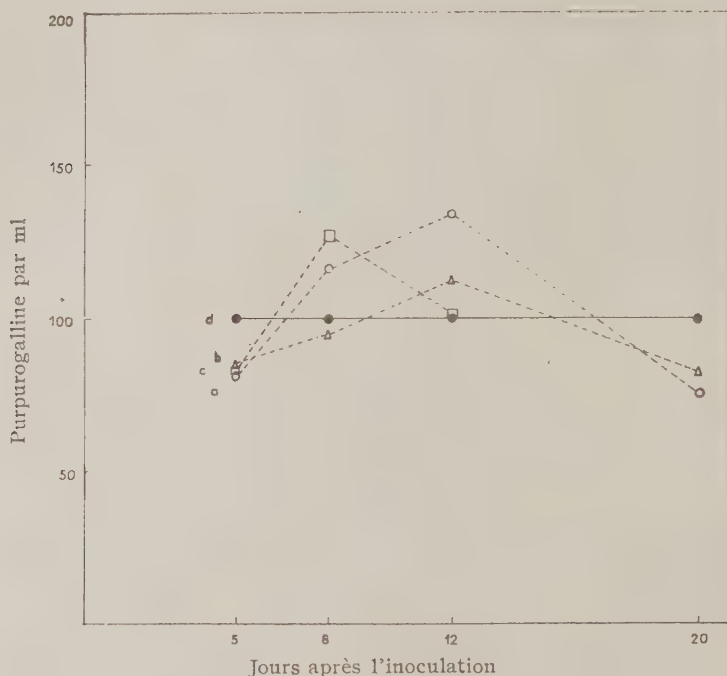


Fig. 7. Activité de la Peroxydase chez des plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac (a), X (b) et par les deux virus simultanément (c) par rapport à celle des plantes saines (d).

Les courbes de l'activité peroxydasique dans les trois groupes de plantes infectées sont presque identiques à celles obtenues par Wynd (1943) chez les feuilles de Tabac infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac. On observe aussi que le maximum de l'activité rapportée par cet auteur est du même ordre que celui constaté, par nous, chez les plantes de Tomate infectées par le même virus.

IV. EXPÉRIENCES SUR L'ACTIVITÉ DE LA CATALASE

Les difficultés présentées par cette oxydase, à cause de son inactivation très rapide, nous ont obligé d'effectuer plusieurs séries d'expériences. Dans le tableau XXIII nous avons résumé les valeurs moyennes de quatre expériences réalisées à des saisons différentes et considérées comme représentatives de l'activité de l'enzyme.

TABLEAU XXIII

Activité de la Catalase chez les plantes (MT), (X), (C) et (T), déterminée aux quatre stades.

Groupes de plantes	Moyenne de quatre expériences — K_s — par rapport à la matière sèche				par rapport à la matière fraîche			
	1er stade	2e stade	3e stade	4e stade	1er stade	2e stade	3e stade	4e stade
(MT)	158,4	22,5	33,5	212	176,5	26,9	40,5	162
(X)	154,3	55,8	31,6	129,2	162,8	56,2	65,1	124
(C)	176,3	21,5	52,6	—	184,6	32	31,8	—
(T)	100	100	100	100	100	100	100	100

Les données du Tableau XXIII et les graphiques de la figure 8 montrent que l'activité de la Catalase présente une fluctuation inverse à celle des trois oxydases déjà étudiées. C'est à dire, le 5e jour après l'inoculation l'activité de l'enzyme, chez les trois groupes de plantes infectées, est supérieure à celle de plantes témoins de 50 %. Au 2e stade elle tombe à une valeur inférieure à celle présentée par les plantes saines. Elle reste à peu près au même niveau jusqu'au 3e stade, puis elle augmente régulièrement et le 20e jour après l'inoculation elle s'établit à une valeur de nouveau supérieure à celle des plantes témoins.

En comparant l'activité enzymatique présentée par les plantes (MT), (X) et (C), nous constatons qu'il y a la même hierarchie donnant la première place à l'activité des plantes (C), la deuxième à celle des plantes (MT), et la troisième à l'activité des plantes (X). Il est évident que ceci dépend de l'expansion des virus. Ainsi l'activité chez les plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac, qui se répand plus

rapidement que le virus X, atteint son minimum au 2e stade, tandis que l'activité chez les plantes infectées par le virus X présente son minimum au 3e stade.

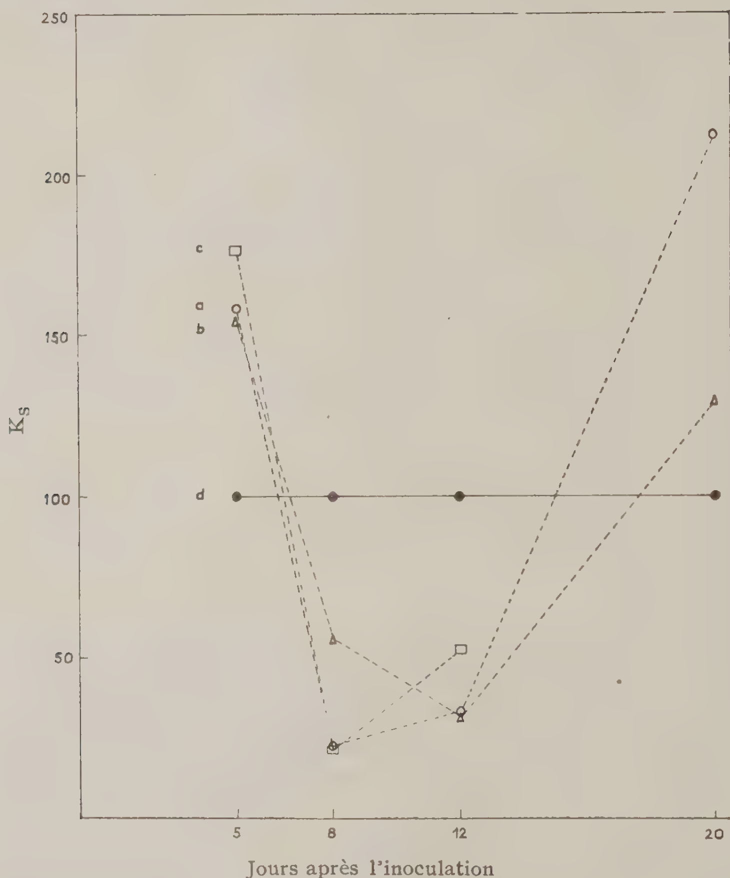


Fig. 8. Activité de la Catalase chez des plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac (a), X (b) et par les deux virus simultanément (c) par rapport à celle des plantes saines (d).

Les courbes d'activité de la Catalase qui ont résulté de nos expériences coincident avec celles obtenues par Wynd (1943), du moins pour la période d'infection comprise entre le 5e et le 20e jour. Dans le cas des feuilles bien développées de Tabac N° 1, 2 et 3, dans les expé-

riences de Wynd, il y a un décalage en ce qui concerne l'apparition du minimum de l'activité par rapport à nos expériences. Cependant, dans le cas des feuilles N° 4, 5 et 6 il y a une coincidence parfaite des courbes dans les limites de temps considérées.

Les données de la bibliographie concernant l'activité de la Catalase chez diverses plantes, d'après lesquelles dans certains cas celle-ci est supérieure à celle des plantes saines [Suzuki (1902), Boas (1919)] et dans d'autres cas inférieure [Chapman (1917), Boas (1919), Harvey (1920)] ne sont pas obligatoirement contradictoires mais elles dépendent chaque fois du stade de la maladie pendant lequel la détermination de l'activité a été faite.

V. RELATION ENTRE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE ET LA MULTIPLICATION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC ET DU VIRUS X.

La multiplication des virus a soulevé depuis longtemps l'intérêt des virologistes, et les recherches réalisées dans ce domaine sont canalisées vers deux directions principales. La première concerne le développement quantitatif des virus dans les tissus de la plante, et la seconde le mécanisme de la synthèse de la protéine-virus dans la cellule. En ce qui concerne la première catégorie de recherches, qui nous intéresse dans ce chapitre, les premières données sont fournies par Holmes (1930) qui a étudié la multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac chez les feuilles de Tabac. En analysant les données du tableau présenté par l'auteur nous constatons que chez les feuilles du sommet le virus présente le maximum de sa concentration le 18e jour après l'inoculation, bien qu'à partir du 14e jour le nombre des lésions locales soit très près du maximum. Chez la feuille inoculée le virus présente la concentration la plus élevée le 14e jour.

Stanley (1937), en étudiant l'augmentation de la protéine du même virus chez les plantes de Tabac, a trouvé que celle-ci, bien qu'elle atteigne un maximum dans une période de 5 semaines après l'inoculation, suit pourtant un rythme de reproduction plus rapide durant les 3 premières semaines.

D'après Martin et collab. (1939), une reproduction rapide de la protéine du virus de la Mosaïque du Tabac, chez des plantes de tabac, se réalise à partir du 6e jour jusqu'au 9e pour atteindre, au bout de 10 jours, le maximum de concentration. Puis on constate une diminution de la protéine-virus.

De même Holmes (1941), dans le cas de plantes de Tabac infectées par le virus Etch, constate que la protéine-virus atteint son niveau maximum le 10e jour après l'inoculation et ensuite commence à diminuer.

Selon les observations de Ross (1941), la concentration du virus de la Mosaïque de la Luzerne, chez le Tabac augmente entre le 4e et 12e jour pour diminuer ensuite rapidement.

Commoner et collab. (1950), ont mis en évidence que la synthèse du virus de la Mosaïque du Tabac commence la 30e heure après l'inoculation. Entre la 100e et 200e heure la reproduction du virus suit un rythme très rapide. Puis la concentration du virus reste constante. Ceci est valable tant pour les feuilles détachées que pour des feuilles *in situ* dans le cas d'une infection généralisée.

Wildman, Cheo, et Bonner (1950) ont démontré que la protéine du même virus chez les feuilles de Tabac augmente constamment à partir du 3e jusqu'au 12e jour.

Steere (1952), fait des constatations pareilles à la suite de ses recherches sur le virus du Bushy Stunt et le virus de la Mosaïque du Tabac. Les courbes de croissance des deux virus sont des courbes du type S. Il y a d'abord la phase d'une croissance lente suivie par une deuxième phase pendant laquelle la concentration des virus devient double toutes les 4 heures. Il y a, ensuite, un ralentissement de la croissance et finalement un arrêt de celle-ci le 12e jour après l'inoculation.

L'analyse des recherches réalisées sur la multiplication des virus dans les tissus des plantes annuelles nous permet de constater que la concentration des virus atteint un niveau maximum entre le 10e et le 14e jour après l'inoculation. L'activité, d'ailleurs, des enzymes oxydasiques déjà étudiés, sauf la Catalase, à fourni des courbes présentant un niveau maximum aussi entre le 11e et le 14e jour. Cette coincidence nous a conduit à étudier l'activité des oxydases parallèlement au développement des deux virus.

Dans ce but on mesurait en même temps dans le jus utilisé pour la détermination de l'activité des enzymes, la concentration des virus. Toutes les séries d'expériences ont donné à peu près les mêmes résultats. Dans le tableau XXIV nous avons résumé les résultats du dosage des deux virus d'une expérience représentative et dans les figures 9 et 10 nous avons présenté, d'une part les courbes de l'activité des quatre oxydases étudiées, et, d'autre part, les courbes de multiplication des deux virus.

TABLEAU XXIV
Résultats du dosage du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus X aux quatre stades.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
	1er stade	
(MT)	1 : 34	1 : 33
(CMT)	1 : 16	1 : 16
(X)	—	—
(CX)	—	—
	2e stade	
(MT)	1 : 58	1 : 66
(CMT)	1 : 68	1 : 86
(X)	1 : 11	1 : 11
(CX)	1 : 16	1 : 21
	3e stade	
(MT)	1 : 87	1 : 92
(CMT)	1 : 69	1 : 69
(X)	1 : 19	1 : 18
(CX)	1 : 41	1 : 46
	4e stade	
(MT)	1 : 76	1 : 87
(X)	1 : 20	1 : 22

La comparaison entre les courbes de concentration des virus pendant la période de 20 jours et les courbes d'activité enzymatique (fig. 9 et 10) montre qu'il y a une relation très étroite entre la multiplication des deux virus et l'activité des enzymes étudiés. Les deux virus installés dans la plante, l'un le 3e et l'autre le 5e jour après l'inoculation, commencent à se reproduire. La concentration augmente et atteint son niveau maximum le 12e jour après l'inoculation. Puis, elle reste stable ou elle présente, soit une diminution, soit une augmentation légère comme dans le cas du virus X (fig. 9). En tout cas l'augmentation du virus X est insignifiante et le rythme de la croissance se ralentit sensiblement à partir du 12e jour.

Un phénomène analogue est observé dans l'activité des trois enzymes. Le 5e jour après l'inoculation l'activité est inférieure à celle des plantes témoins. Puis, elle monte et atteint son niveau maximum au 3e stade, soit le 12 jour après l'inoculation, pour diminuer ensuite

jusqu'au 4e stade où elle tombe à une valeur voisine de celle fournie par les plantes saines.

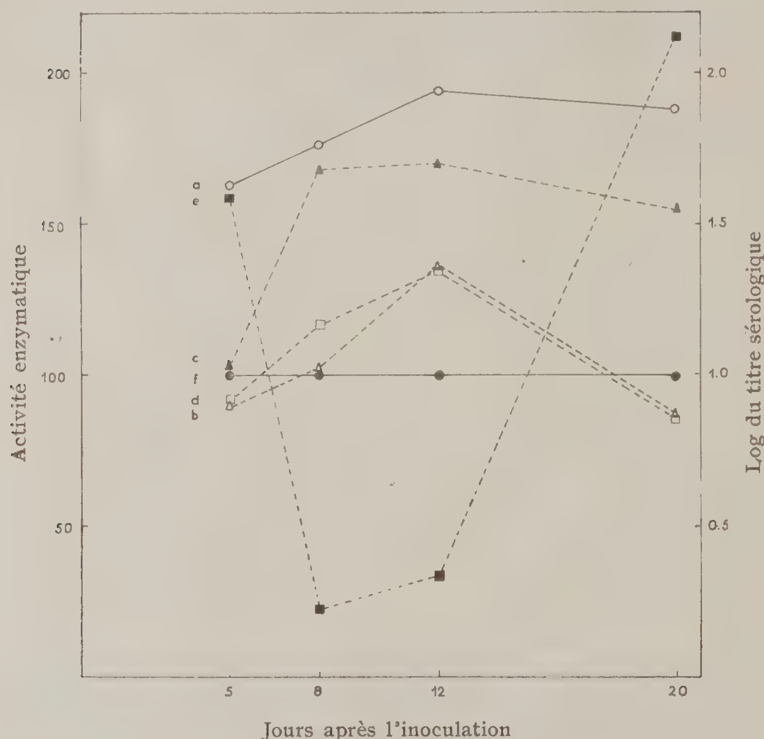


Fig. 9. Comparaison entre la courbe de multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac (a et les courbes d'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique (b), de la Polyphénoloxydase (c), de la Peroxydase (d) et de la Catalase (e) par rapport au témoin (f) pendant les quatre stades.

Sous les mêmes conditions expérimentales le virus de la Mosaïque du Tabac se multiplie plus intensement que le virus X. Quant à l'activité enzymatique, comme nous avons déjà signalé, il y a une supériorité analogue du virus de la Mosaïque du Tabac. Dans le cas des infections mixtes, où il y a une reproduction simultanée de deux virus, l'activité oxydasique est supérieure à celle estimée chez les plantes infectées isolement par chacun des virus.

Le phénomène du parallélisme constaté entre l'activité enzymatique et la multiplication des virus (Zachos 1955 a) ne se présente pas exclusivement chez les virus des végétaux. En effet, il a déjà été observé dans des cas de maladies à virus des animaux. Ainsi, Poppe

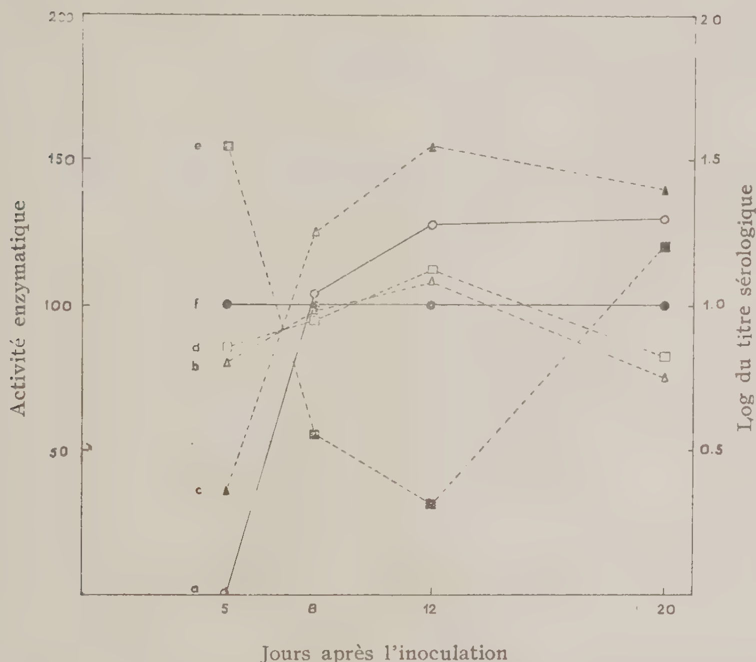


Fig. 10. Comparaison entre la courbe de multiplication du virus X (a) et les courbes d'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique (b), de la Polyphenoloxydase (c), de la Peroxydase (d), et de la Catalase (e), par rapport au témoin (f) pendant les quatre stades.

et Busch (1931), ont mis en évidence que l'activité de l'Oxydase dans le sang de cobayes infectés par le virus de la Fièvre Aphteuse (Virus der Maul-und-Klauenseuche) marche parallèlement au pouvoir pathogène du virus. D'autre part, Bauer (1947 a, 1947 b), a démontré qu'il y a une relation étroite entre l'activité de l'Oxydase de la xanthine et la multiplication du virus de la Fièvre Jaune encephalitique de la souris (Yellow Fever Encephalitis).

VI. RELATIONS ENTRE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE ET LA MULTIPLICATION DES DEUX VIRUS CHEZ DES PLANTES PRÉALABLEMENT INFECTÉES PAR CHACUN D'EUX

Il a été démontré, dans le chapitre précédent, que la multiplication de chacun des deux virus agissant, soit seuls, soit de concert dans les infections simultanées, suscite une intensité de l'activité oxydasique de la plante. Si, en effet, les deux activités sont étroitement liées il faudrait que le développement de chacun des deux virus, chez des plantes préalablement infectées par l'autre, provoquât une activité enzymatique analogue.

Afin d'élucider cette question nous avons effectué les épreuves suivantes. Tout d'abord nous avons étudié l'activité enzymatique par rapport à la multiplication, d'une part du virus de la Mosaïque du Tabac chez des plantes préalablement infectées par le virus X, et, d'autre part, du virus X chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac. L'étude des quatre oxydases étant difficile nous nous sommes bornés à celle de la Peroxydase.

La détermination de l'activité de la Peroxydase et le dosage des virus s'effectuait aux trois stades suivants :

1er stade : 5 jours après l'inoculation avec le deuxième virus
2e » : au début de l'apparition des premiers symptômes chez les plantes à infection mixte
3e » : pendant la phase aiguë de la maladie.

La difficulté présentée dans cette série d'expériences était la suivante : comment pourrait-on avoir une image précise de l'activité oxydasique provoquée par le deuxième virus, étant donné que le premier virus, une fois installé dans la plante, entraine une intensité de l'activité de la même oxydase. On a surmonté cette difficulté en inoculant le deuxième virus au moins 10 jours après l'inoculation du premier. De cette façon le moment où on effectuait l'examen du 1er stade, soit 5 jours après l'inoculation avec le deuxième virus, le premier se trouvait dans la plante depuis une quinzaine de jours et l'on pourrait s'attendre, suivant nos observations précédentes, que l'activité enzymatique provoquée par lui fût en baisse.

a. Relations entre l'activité de la Peroxydase et la multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac chez des plantes préalablement infectées par le virus X.

Douze plantes portant chacune 9 feuilles ont été infectées par le virus X. Le 10e jour après l'inoculation six d'entre elles ont reçu le

virus de la Mosaïque du Tabac. L'examen du 1er stade eut lieu le 5e, du 2e stade le 10e, et du 3e stade le 14e jour après l'inoculation avec le dernier virus.

Les résultats de l'examen sérologique et ceux de la détermination de l'activité de la Peroxydase, traduits par les graphiques de la fig. 11, sont condensés dans les tableaux XXV et XXVI.

TABLEAU XXV

Résultats du dosage des deux virus aux trois stades.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
	1er stade	
(CMT)	1 : 17	1 : 17
(CX)	1 : 22	1 : 22
(X)	1 : 19	1 : 18
	2e stade	
(CMT)	1 : 48	1 : 47
(CX)	1 : 36	1 : 34
(X)	1 : 20	1 : 18
	3e stade	
(CMT)	1 : 30	1 : 32
(CX)	1 : 40	1 : 43
(X)	1 : 11	1 : 11

TABLEAU XXVI

Activité de la Peroxydase chez des plantes préalablement infectées par le virus X et ensuite par le virus de la Mosaïque du Tabac comparativement à celle des plantes infectées uniquement par le virus X.

Groupes de plantes	Purpurogalline en γ/ml					
	Par rapport à la matière sèche			Par rapport à la matière fraîche		
	1er stade	2e stade	3e stade	1er stade	2e stade	3e stade
(C)	107,4	145,5	152,5	108,8	161,1	160
(X)	100	100	100	100	100	100

Des graphiques correspondants (fig. 11) on constate que chez les plantes qui ont reçu le virus X et ensuite le virus de la Mosaïque du Tabac, l'activité de la Peroxydase (d) monte progressivement du 1[er]

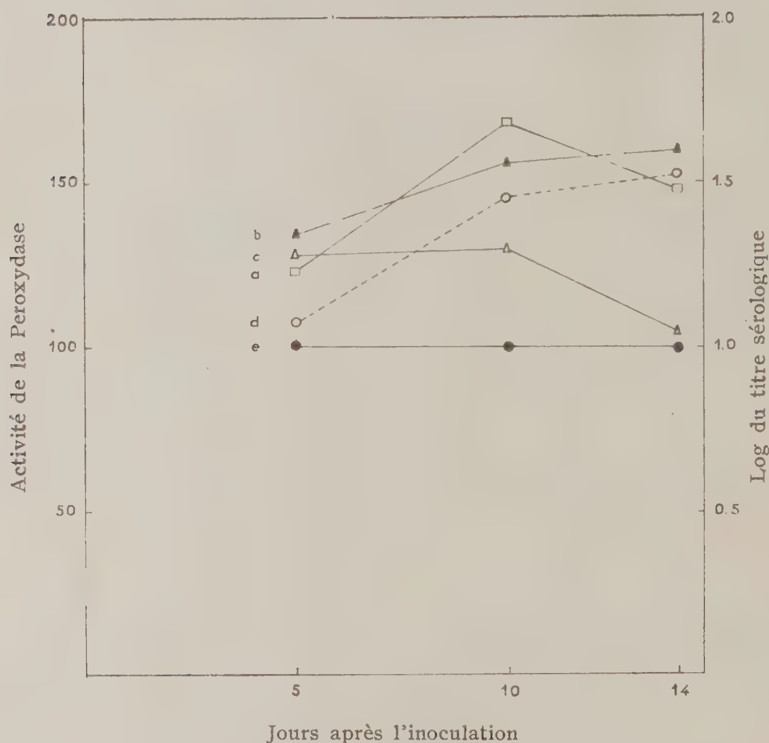


Fig. 11. Comparaison entre les courbes de multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac (a) et du virus X (b) et la courbe d'activité de la Peroxydase (d) chez des plantes infectées initialement par le virus X et ensuite par le virus de la Mosaïque du Tabac. La courbe (c) correspond à la multiplication du virus X et la courbe (e) à l'activité de la Peroxydase chez des plantes infectées isolement par le virus X.

jusqu'au 3[e] stade. Au 1[er] stade elle se trouve au niveau de l'activité présentée par les plantes infectées par le virus X seul qui servent comme témoins (e). Elle devient ensuite, au 3[e] stade supérieure à celle des témoins de 52,5°/₀.

Parallèlement à la courbe d'activité de la Peroxydase (d) marchent les courbes de développement des deux virus (a, b) chez les plantes à infection mixte. La courbe de multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac (a) suit fidélement la courbe de l'activité peroxydasique jusqu'au 2e stade. Puis, la concentration du virus diminue à cause de l'interférence du virus X. Par contre, la courbe de multiplication du virus X (b) continue à être parallèle à celle de l'activité enzymatique jusqu'au 3e stade. Le développement plus intense du virus X par rapport au témoin est dû aux raisons que nous avons exposées dans le chapitre des interférences entre les deux virus. La concentration du virus X chez les témoins (c) reste au même niveau du 1er jusqu'au 2e stade, c'est à dire, du 15e jusqu'au 20e jour après l'inoculation, et ensuite elle diminue.

b. Relations entre l'activité de la Peroxydase et la multiplication du virus X chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac.

Douzes plantes portant chacune 8 feuilles ont été infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac. Dix jours après l'inoculation, six

TABLEAU XXVII

Résultats du dosage des deux virus aux deux stades.

	Titre sérologique	
	Par rapport à la matière sèche	Par rapport à la matière fraîche
1er stade		
(MT)	1 : 399	1 : 358
(CMT)	1 : 338	1 : 353
(CX)	—	—
2e stade		
(MT)	1 : 394	1 : 348
(CMT)	1 : 363	1 : 357
(CX)	1 : 68	1 : 67

plantes d'entre elles ont reçu le virus X. La détermination de l'activité enzymatique et le dosage des virus ont eu lieu aux 1er et 2e

stade, soit le 5e et 10e jour après l'inoculation avec le deuxième virus. Malheureusement l'examen du 3e stade n'a pas eu lieu car, à cause

TABLEAU XXVIII

Activité de la Peroxydase chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac et ensuite par le virus X comparativement à celle des plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac.

Groupes de plantes	Purpurogalline en γ/ml			
	Par rapport à la matière sèche		Par rapport à la matière fraîche	
	1er stade	2e stade	1er stade	2e stade
(C)	96	151	104	153
(MT.)	100	100	100	100

d'une erreur, les plantes ont été détruites. Ceci n'a pas entravé l'évolution du phénomène recherché et pour cela nous présentons l'expérience inachevée.

Dans les tableaux XXVII et XXVIII nous avons résumé respectivement les résultats de l'examen sérologique et ceux de l'activité enzymatique.

L'étude des graphiques (fig. 12) nous permet tout d'abord de constater que la concentration du virus de la Mosaïque du Tabac se trouve au même niveau, tant chez les plantes à infection mixte (b) que chez les plantes infectées par le virus seul (a), pendant la période comprise entre le 1er et le 2e stade, soit entre le 15e et le 20e jour après l'inoculation. Ceci est d'accord avec les constatations que nous avons faites dans les expériences précédentes selon lesquelles la concentration des virus atteint son niveau maximum le 12e jour environ après l'inoculation et reste ensuite presque stable. Par conséquent, chez les plantes à infection mixte le seul virus qui a marqué une augmentation de sa concentration est le virus X (c). Par ailleurs, on observe qu'en même temps l'activité peroxydasique (d) accroît et devient, au 2e stade, supérieure de 50 pour cent à celle estimée chez les plantes infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac seul (e).

L'analyse des deux dernières expériences nous permet de constater que, tant dans le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac infecte

des plantes préalablement infectées par le virus X, aussi bien que dans le cas inverse, les deux virus suscitent une activité peroxydasique parallèle à leur développement.

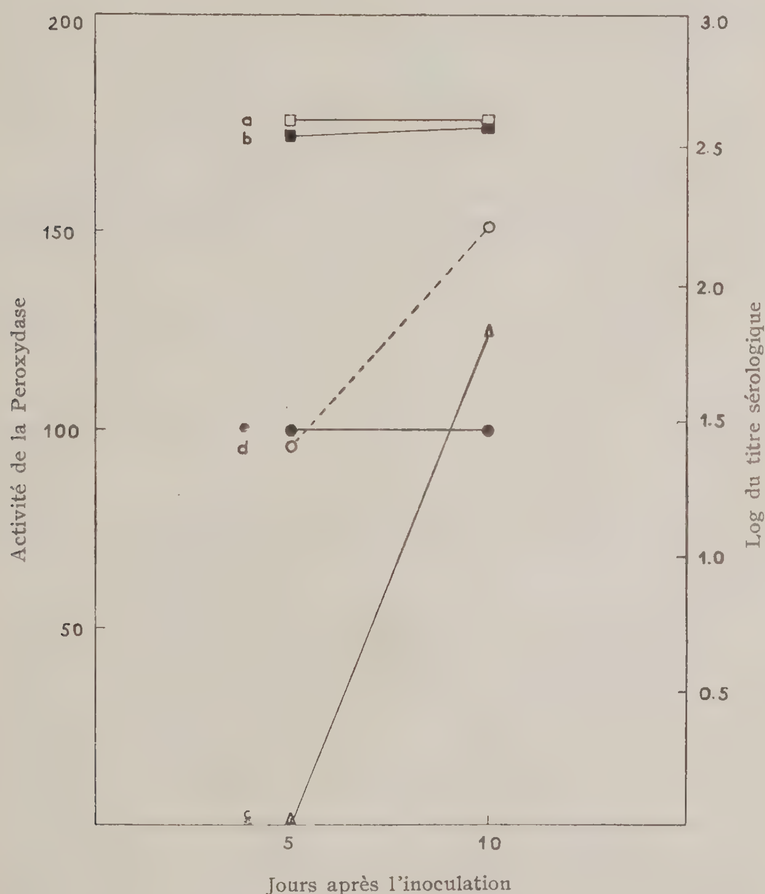


Fig. 12. Comparaison entre les courbes de multiplication du virus X (c) et du virus de la Mosaïque du Tabac (a), et la courbe d'activité de la Peroxydase (d) chez des plantes infectées initialement par le virus de la Mosaïque du Tabac et ensuite par le virus X. La courbe (b) correspond à la multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac et la courbe (e) à l'activité de la Peroxydase chez des plantes infectées isolement par le virus de la Mosaïque du Tabac.

VII DISCUSSION ET CONCLUSIONS

De recherches sur l'activité oxydasique par rapport à la multiplication des deux virus résultent les faits suivants:

1) L'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique, de la Polyphénoloxydase, et de la Peroxydase chez les plantes malades est, le 5e jour après l'inoculation, inférieure à celle des plantes saines. Puis elle monte, dépasse l'activité des témoins, atteint un niveau maximum, et ensuite elle déscent à une valeur voisine de celle des plantes saines.

L'activité enzymatique présente une courbe identique tant chez les plantes infectées par les deux virus seuls que chez les plantes à infection mixte.

2) La courbe de l'activité de la Catalase est inverse à celle des autres oxydases.

3) Dans tous les cas examinés la courbe de l'activité des oxydases, sauf la Catalase, marche parallèlement à la courbe de multiplication des virus.

4) Dans le cas où l'un des deux virus se multiplie chez des plantes préalablement infectées par l'autre, il suscite une activité peroxydasique nouvelle qui va parallèlement à la reproduction des deux virus dans la plante.

En suivant de tout près la fluctuation de l'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique, de la Polyphénoloxydase, et de la Peroxydase, on constate que l'entrée des virus dans la plante provoque un dérangement au fonctionnement des cellules, résultant à une chute de l'activité enzymatique. Après ce choc, l'activité enzymatique remonte au niveau physiologique et s'intensifie au fur et à mesure que la quantité de la protéine-virus augmente. Au moment où la concentration des virus atteint son maximum, on constate aussi le maximum de l'activité enzymatique. La reproduction des virus étant achevée, les systèmes oxydasiques s'affaiblissent et l'activité devient inférieure, égale, ou parfois un peu supérieure à celle des cellules physiologiques.

Woods (1940, 1943), en expérimentant en direction inverse, a provoqué l'inhibition de la multiplication des virus de la Mosaïque du Tabac et du Ring-Spot du Tabac par le cyanure de potassium qui exerce une action inhibitrice sur l'activité de certaines oxydases. Afin d'interpréter ce phénomène, l'auteur avance deux hypothèses. Suivant

la première le mécanisme de synthèse des virus dépendrait de l'activité des enzymes respiratoires contenant de l'hématine. D'après la seconde, la protéine-virus contiendrait de l'hématine, ou une substance de structure analogue, qui pourrait être bloquée par le cyanure de potassium.

Par ailleurs Bauer, (1947a, 1947b), à la suite de ses recherches sur l'activité de l'Oxydase de la xanthine et la multiplication du virus de la Fièvre Jaune, considère que l'activité de l'enzyme est indispensable à la multiplication du virus.

Les données de nos recherches, bien qu'elles aient mis en évidence la relation étroite entre la multiplication des deux virus et l'activité des oxydases, ne permettent, pourtant pas, de préciser le mécanisme de cette relation. La voie parallèle suivie par les deux activités pourrait conduire à l'hypothèse avancée par les auteurs précités, suivant laquelle la synthèse de la protéine-virus dépendrait de quelque façon du fonctionnement des systèmes oxydasiques étudiés. Mais nos connaissances sur la multitude des réactions biochimiques qui déterminent la physiologie de la cellule végétale sont insuffisantes pour permettre de lier d'une manière certaine la multiplication des virus à l'activité de certains enzymes, dont le rôle est si peu connu.

Il est bien établi que le virus en entrant dans la cellule dévie le métabolisme et le met à profit de sa reproduction. Nous ne pouvons donc exclure que certains chimismes du mécanisme cellulaire puissent avoir lieu sans être indispensables à la synthèse de la protéine-virus. On pourrait très bien supposer qu'il y aurait des chimismes secondaires, ou des processus parallèles n'ayant aucune influence directe sur la multiplication des virus. Une augmentation des substances phénoliques pourrait éventuellement justifier l'activité de certains systèmes oxydasiques.

Un parallélisme entre le développement *in vitro* des tissus de Topinambour en présence de substances de croissance et l'activité de la Peroxydase et de la Polyphénoloxydase a été observé par Morel et Démétriadès (1954). De plus les mêmes auteurs ont constaté que la fluctuation de l'activité de la Catalase était inversement proportionnelle à celle des autres oxydases. Ce même phénomène constaté, d'une part dans le cas de multiplication de cellules saines dans lesquelles il se réalise activement une synthèse de protéines normales, et, d'autre part dans le cas des cellules envahies par des virus dans lesquelles a lieu une synthèse de nucléoprotéines pathologiques, nous conduit à l'hyphothèse que la reproduction de la protéine-virus suit la voie de

synthèse des protéines normales. Quant à cette dernière hypothèse Bawden et Pirie (1953), commentant les dernières données sur la multiplication des virus, constatent que rien n'a été découvert qui puisse distinguer la multiplication des virus de la synthèse d'autres protéines.

CHAPITRE VI

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les recherches sur l'expansion des deux virus ont révelé que le virus X, sous les mêmes conditions expérimentales, se répand plus lentement que le virus de la Mosaïque du Tabac. Par ailleurs, les expériences sur la multiplication des mêmes virus ont mis en évidence que le virus X se multiplie moins activement que le virus de la Mosaïque du Tabac. Enfin les recherches concernant l'activité des oxydases ont permis de constater que l'activité enzymatique provoquée par le virus X est moins élevée comparativement à celle suscitée par le virus de la Mosaïque du Tabac. Ces constatations nous permettent de tirer la conclusion que le virus X, sous les mêmes conditions expérimentales, se présente moins actif que le virus de la Mosaïque du Tabac.

La fluctuation identique de l'activité oxydasique chez les plantes infectées isolément par les deux virus montre, d'ailleurs, que ceux-ci provoquent une modification analogue de la physiologie de la cellule. Il est donc très vraisemblable que la synthèse de la protéine des deux virus suive, jusqu'à un certain point, la même voie et stimule les les mêmes mécanismes.

En se basant sur les considérations ci-dessus nous pouvons donner aux phénomènes d'interférence observés les interprétations suivantes :

Les recherches sur la multiplication des deux virus ont montré que le virus X se multiplie plus intensement par rapport au témoin, d'une part dans le cas des infections simultanées, et, d'autre part, chez les plantes infectées d'abord par le virus X et ensuite par le virus de la Mosaïque du Tabac. Dans les deux cas le développement du virus de la Mosaïque du Tabac est partiellement inhibé.

Les dernières données bibliographiques concernant la synthèse de la protéine-virus, sont en faveur de deux thèses. Suivant la première la protéine-virus se synthétiserait aux dépens de la protéine normale de la cellule d'une façon directe (Wildman, Cheo et Bonner 1949, Wildman et Bonner 1950). Selon la seconde, le virus se repro-

duirait du stock d'azote soluble, d'acides aminés et d'autres produits issus de l'autolyse des protéines normales (Martin et collab. 1938, Spencer 1941, Takahashi 1941, Meneghini et Delwiche 1951, Commoner et Dietz 1952, Pirie 1952).

Quoi qu'il en soit, l'entrée d'un virus dans la cellule exerce une influence sur le mécanisme de synthèse de la protéine normale et l'oriente vers la synthèse de la protéine virus. Dans le cas où les deux virus en question envahissent simultanément la même cellule il est logique d'attendre, en se basant sur les considérations que nous avons faites plus haut, que les deux pathogènes exercent sur le métabolisme cellulaire une influence analogue. Le virus de la Mosaïque du Tabac, étant plus actif que le virus X, déclanche le premier, le mécanisme de synthèse de la protéine pathologique. Il est possible que le virus X, en suivant de tout près l'activité du virus de la Mosaïque du Tabac et n'ayant pas la possibilité de développer une activité de la même envergure, exploîte une partie de produits intermédiaires préparés par la cellule stimulée par le virus de la Mosaïque du Tabac, produits qui seraient indispensables à la synthèse de la molécule de ce dernier virus. En avançant cette hypothèse nous considérons qu'en dehors des chimismes spéciaux de la cellule, qui aboutissent à la synthèse d'une protéine-virus spécifique, et qui doivent obligatoirement être déterminés par les caractères intrinsèques du virus, il y a toute une série de réactions biochimiques qui sont éventuellement les mêmes pour les deux virus. C'est probablement sur les produits de ces réactions qu'il se manifeste l'antagonisme observé.

Si l'on admet que le virus X utilise les produits secondaires, formés durant l'activité reproductive du virus de la Mosaïque du Tabac, on aura une difficulté d'interpréter l'inhibition de ce dernier virus. Par contre, la diminution de sa concentration par rapport au témoin prouve que le virus X exploite des substances déstinées à être utilisées à la synthèse de la protéine du virus de la Mosaïque du Tabac.

Dans le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac se multiplie chez des plantes préalablement infectées par le virus X, le dernier virus se développe plus intensement par rapport aux témoins. La cause qui avait interrompu la synthèse du virus X n'est pas connue. En entrant postérieurement dans la cellule le virus de la Mosaïque du Tabac déclanche une nouvelle synthèse. Les expériences sur la péroxydase montrent que les processus physiologiques sont stimulés de nouveau. Il est possible que cette nouvelle activité de la cellule, incitée par le virus de la Mosaïque du Tabac, plus actif que le virus X,

crée un cycle de chimismes plus ample, et de substrats alimentaires, que le virus X exploite au détriment du virus de la Mosaïque du Tabac. Ce fait pourrait expliquer la concentration moins élevée de ce dernier virus chez les plantes (C), par rapport aux témoins.

Enfin dans le cas où le virus X se multiplie chez des plantes dans lesquelles le virus de la Mosaïque du Tabac est déjà installé et a achevé la synthèse de sa molécule, sa concentration reste égale à celle des témoins. Ceci prouve que le virus X, en l'absence des conditions biochimiques créées par le virus de la Mosaïque du Tabac, qui favorisent son développement plus intense, suit un développement déterminé par sa propre capacité de synthèse.

RÉSUMÉ

Le travail exposé avait comme but l'étude des interférences entre le virus de la Mosaïque du Tabac et le virus X de la Pomme de terre dans la maladie complexe de la Tomate (Streak).

La recherche a compris les parties suivantes:

A. L'expansion de deux virus.
B. Les phénomènes d'interférence entre les deux virus.
C. Les relations entre l'activité de certains systèmes oxydasiques et la multiplication des deux virus.

A. EXPANSION DES DEUX VIRUS

I. Expansion du virus de la Mosaïque du Tabac.

1. Le virus passe de la feuille inoculée dans la tige au bout de 48 heures.

2. Il arrive en même temps au bourgeon terminal.

3. Il gagne la racine principale après 72 heures

4. Après 120 heures, soit 5 jours, le virus envahit la 6e feuille, ensuite les 1ere, 2e et 5e feuilles, numérotées à partir de la base de la plante, et au bout de 8 jours il se décèle dans toutes les feuilles de la plante.

II. Expansion du virus X.

1. Le virus demande un temps de 4 jours pour passer de la feuille inoculée dans la tige.

2. Il se décèle en même temps au bourgeon terminal et la racine.

3. Le 5e jour il gagne la 6e feuille. Il envahit ensuite les 5e, 1ere et 2e feuilles, et, au bout de 10 jours se généralise dans la plante.

III. Expansion de deux virus chez des plantes infectées simultanément par eux.

1. Le passage des deux virus de la feuille inoculée dans la tige exige un temps de 72 heures.

IV. Expansion du virus de la Mosaïque du Tabac chez des plantes préalablement infectées par le virus X.

1. Le passage du virus, de la feuille inoculée dans la tige exige un temps de 48 heures.

V. Expansion du virus X chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac.

1. Le virus passe de la feuille inoculée dans la tige après un délai de 96 heures.

2. Il arrive en même temps dans la racine principale.

3. Il se décèle au bourgeon terminal 24 heures plus tard.

4. Il gagne la première, sous le sommet, feuille le 6e jour, puis se répand progressivement dans les autres feuilles de la plante situées au-dessus de la feuille inoculée.

Les expériences sur l'expansion ont permis de constater, entre autres, que dans le cas des infections mixtes et simultanées les mouvements des deux virus ne sont pas indépendants, l'un de l'autre, mais qu'il y a une interférence provoquant une accélération de l'expansion du virus X et un ralentissement de celle du virus de la Mosaïque du Tabac.

B. PHÉNOMÈNES D'INTERFÉRENCE ENTRE LES DEUX VIRUS

I. Multiplication du virus de la Mosaïque du Tabac et du virus X chez des plantes simultanément infectées par les deux virus.

1. Chez les plantes simultanément infectées par les deux virus, et pendant la phase aiguë de la maladie, la concentration du virus X est de 3 à 5 fois plus élevée que celle des témoins. Par contre, le virus de la Mosaïque du Tabac est inhibé partiellement et sa concentration diminue du $^1/_2$ au $^1/_8$ par rapport aux témoins.

II. Multiplication des deux virus chez des plantes préalablement infectées par le virus de la Mosaïque du Tabac.

1. Le virus X inoculé chez des plantes hébergeant le virus de la Mosaïque du Tabac, pour des périodes de 25, 15, et 5 jours, n'exerce aucune inhibition sur le développement de ce dernier. Tous les deux

virus présentent une concentration presque égale à celle de leurs témoins.

III. Multiplication des deux virus chez des plantes préalablement infectées par le virus X.

1. Le virus X se multiplie plus intensement chez les plantes à infection mixte atteignant un taux de 2,5 à 3,5 plus élevé que celui des témoins. Par contre, l'on observe une inhibition du virus de la Mosaïque du Tabac au $^{1}/_{2}$ par rapport aux témoins.

IV. Multiplication du virus de la Mosaïque Aucuba de la Tomate et du virus X chez des plantes infectées simultanément par les deux virus.

1. Le virus X se multiplie plus intensement présentant une concentration double par rapport aux témoins. Par contre le virus de la Mosaïque Aucuba présente une concentration diminuée au $^{1}/_{2}$ comparativement à celles des témoins.

Les expériences sur la multiplication révèlent un phénomène d'antagonisme entre les deux virus dans la maladie complexe de la Tomate (Streak). Ce phénomène d'antagonisme a aussi été observé dans le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac était remplacé par le virus de la Mosaïque Aucuba de la Tomate.

C. RELATIONS ENTRE L'ACTIVITÉ DE CERTAINS SYSTÈMES OXYDASIQUES ET LA MULTIPLICATION DES DEUX VIRUS

I. Expériences sur l'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique.

L'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique, ayant été étudiée chez des plantes infectées a) par le virus de la Mosaïque du Tabac, b) par le virus X, c) par les deux virus simultanément et, d) chez des plantes saines, à quatre stades échellonés sur une période de 20 jours, a présenté la fluctuation suivante: le 5e jour après l'inoculation chez les plantes infectées l'activité est inférieure à celle des plantes saines. Le 8e jour elle commence à monter et atteint un niveau maximum le 12e jour. Puis elle diminue et le 20e jour après l'inoculation s'établit à une valeur inférieure à celle des témoins.

II. Expériences sur l'activité de la Polyphénoloxydase.

On observe une fluctuation d'activité analogue à la précédente.

III. Expériences sur l'activité de la Peroxydase.

On observe une fluctuation d'activité analogue à celle des enzymes précédents.

IV. Expériences sur l'activité de la Catalase.

La fluctuation de l'activité de la Catalase est inverse à celle de trois enzymes cités. Le 5e jour après l'inoculation l'activité présentée par les plantes des trois premières catégories est supérieure à celle des plantes saines, qui servent comme témoins. Le 8e jour elle devient inférieure à celle des témoins. Elle reste à peu près au même niveau jusqu'au troisième stade, soit le 12e jour après l'inoculation, puis elle accroit régulièrement, et le 20e jour s'établit à une valeur de nouveau supérieure à celle des plantes saines.

V. Relations entre l'activité enzymatique et la multiplication des deux virus.

1. La comparaison entre les courbes de concentration des virus pendant la période de 20 jours et les courbes d'activité oxydasique montre qu'il y a une relation étroite entre la multiplication des deux virus et l'activité des enzymes étudiés. Les deux virus installés dans la plante, l'un le 3e et l'autre le 5e jour après l'inoculation, commencent à se reproduire. La concentration augmente et atteint un niveau maximum le 12e jour après l'inoculation. Puis elle reste stable. Un phénomène analogue est observé dans l'activité de l'Oxydase de l'acide ascorbique, de la Polyphénoloxydase et de la Peroxydase. Le 5e jour après l'inoculation l'activité est inférieure à celle des plantes témoins. Puis elle monte et atteint un niveau maximum au 3e stade, soit le 12e jour après l'inoculation, pour diminuer ensuite jusqu'au 4e stade, où elle tombe à une valeur voisine de celle fournie par les plantes saines.

2. Sous les mêmes conditions expérimentales le virus de la Mosaïque du Tabac se multiplie plus intensement que le virus X. Quant à l'activité enzymatique il y a une supériorité correspondante.

3. Dans le cas des infections mixtes, où il y a une reproduction simultanée des deux virus, l'activité enzymatique est supérieure à celle estimée chez les plantes infectées isolement par chacun des virus.

VI. Relations entre l'activité enzymatique et la multiplication de deux virus chez des plantes préalablement infectées par chacun d'eux.

Tant dans le cas où le virus de la Mosaïque du Tabac infecte des plantes préalablement infectées par le virus X que dans le cas inverse, les deux virus suscitent une activité de la Peroxydase parallèle à leur développement.

BIBLIOGRAPHIE

BAILEY L. H. (1892). — Some troubles of winter Tomatoes. I. Winterblight. *Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Bull.* **43** : 149 - 158.

BAKER D. et NELSON J. M. (1943). — Tyrosinase and plant respiration. *Jour. Gen. Physiol.* **26** : 269 - 276.

BAUER D. J. (1947a). — Dehydrogenase activity in virus infections. *Brit. Jour. Exp. Path.* **28** : 440 - 446.

BAUER D. J. (1947b). — Xanthine Oxidase and Virus Growth. *Nature,* **159** : 438.

BAWDEN F. C. (1950). — Plant Viruses and Virus diseases. *Chronica Botanica.* Third Ed.

BAWDEN F. C. et KASSANIS B. (1945). — The suppression of one plant virus by another. *Ann. Appl. Biol.* **32** : 52 - 57.

BAWDEN F. C. et PIRIE N. W. (1953). — Virus multiplication considered as a form of protein synthesis. *The nature of virus multiplication.* Second Symposium of the Soc. for Gen. Microbiology. Cambridge Univ. Press. 21 - 45.

BEALE H. P. (1934). — The serum reactions as an aid in the study of filterable viruses of plants. *Contr. Boyce Th. Inst.* **6** : 407 - 435.

BENNETT C. W. (1949). — Recovery of plants from dodder latent mosaic. *Phytopath.* **39** : 637 - 646.

BENNETT C. W. (1951). — Interference phenomena between plant viruses. *Ann. Rev. Microbiol* **5** : 295 - 308.

BENNETT C. W. (1953). — Interactions between Viruses and Virus strains. *Adv. Virus Res.* **1** : 39 - 67.

BOAS F. (1919). — Beiträge zur Kenntnis des Kartoffelabbaues. *Zeit. f. Pflanzenkrank.* **29** : 171 - 176.

BOSWELL J. G. et WHITING G. C. (1938). — A study of the polyphenol oxidase system in potato tubers. *Ann. Bot* **2** : 847 - 864.

BUNZEL H. H. (1912a). — Biochemical study of the Curly-Top Disease of Sugar Beets. *Science,* **35** : 389.

BUNZEL H. H. (1912b). — The measurement of the oxidase content of plant juices. *U S Departm Agric. Bur. Plant Ind Bull.* No **238**.

BUNZEL H. H. (1913a). — Die Rolle der Oxydasen in der Blattrollkrankheit der Zuckerrübe. *Biochem. Zeitschrift,* **50** : 185 - 208.

BUNZEL H. H. (1913b). — A biochemical study of the curly-top of sugar beets. *U. S Departm Agr. Bur. Plant Ind. Bull* No **277**.

BUNZEL H H. (1914) — Oxidases in healthy and in curly-dwarf potatoes. *Jour. Agr. Res.* **2** : 373 - 404.

BUNZEL H. H. (1918). — Oxidases reaction in healthy and in blighted spinach. *Jour. Agr. Res.* **15** : 377 - 380.

Caldwell J. (1934). - The physiology of virus diseases in plants. VI. Some effect of mosaic on the metabolism of the tomato. *Ann. Appl. Biol.* **21** : 206 - 224.

Capoor S. P. (1949).— The movement of tobacco mosaic viruses and potato virus X through tomato plants. *Ann. Appl. Biol.* **36** : 307 - 319.

Chakraborty R. K. et Guha B. C. (1937). — Ascorbic acid oxidase in plant and animal tissues. *Ind. Jour. Med. Res.* **24**: 839 - 843.

Chance B. (1951). — Enzyme - Substrate compounds. *Adv. Enzymol.* **12** : 153 - 190.

Chance B., Greenstein D. S., et Roughton F. J. W. (1952).—The mechanism of catalase action. I. Steady - state analysis. *Arch. Biochem. Biophys.* **37** : 301 - 321.

Chapman G. H. (1917). — Mosaic Disease of Tobacco. *Mass. Agr. Exp. Sta. Bull.* **175** : 73 - 117.

Commoner B. et Dietz P. M. (1952). — Changes in non - protein nitrogen metabolism during tobacco mosaic virus biosynthesis. *Jour. Gen. Physiol.* **35**: 847 - 856.

Commoner B., Mercier F. L., Merrill P., et Zimmer A. J. (1950).—Microanalytical Determination of the Rate of Tobacco Mosaic virus Synthesis in Tobacco leaf tissue. *Arch. Biochem.* **27** : 271 - 286.

Doby G. (1911 a). — Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel I. Die Oxydasen der ruhenden Knollen. *Zeit. Pflanzenkrank. Pflanzensch.* **21** : 10 - 17.

Doby G. (1911 b). - Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel II. Die Oxydasen der ruhenden und angetriebenen Knollen. *Zeit. Pflanzenkrank. Pflanzensch.* **21** : 321 - 336.

Gardner M. W. et Kendrick J. W. (1922).— Tomato mosaic. *Indiana Agr. Exp. Sta. Bull.* **261** : 1- 24.

Harvey R. B. (1920).— Hydrogen ion changes in the mosaic disease of tobacco plants and their relation to catalase. *Jour. Biol. Chem.* **42** : 397 - 400.

Hasselbring H. et Alsberg C. L. (1911).—Studies upon oxidases. *Science,* **31** : 637.

Hills C. H. et McKinney H. H. (1942) — The effect of Mosaic virus infection on the protein content of susceptible and resistant strains of Tobacco. *Phytopath.* **32** : 857 - 866.

Holmes F. O. (1930). — Local and systemic increase of tobacco mosaic virus. *Amer. Jour. Bot.* **17** : 789 - 805.

Holmes F. O. (1941). — Quantitative measurements of tobacco-etch virus. *Phytopath.* **31** : 12.

Howitt J. E. et Stone R. E. (1916). — A troublesome disease of winter tomatoes. *Phytopath.* **6** : 162 - 166.

James W. O. et Gragg J. M. (1943).— The ascorbic acid system as an agent in barley respiration. *New Phytologist,* **42** : 28 - 44.

Johnson J. (1921). — The relation of air temperature to certain plant diseases. *Phytopath.* **11** : 447 - 458.

Johnson J. (1925).— A virus from potato transmissible to tobacco. *Phytopath.* (Abstr.) **15**: 46.

Keilin D. et Hartee E. F. (1945).— Properties of Catalase Catalysis of Coupled Oxidations of Alcohols. *Biochem. Jour.* **39**: 293 - 301.

Köhler E. (1943).—Untersuchungen und Betrachtungen über Virus antagonismus im Pflanzenkörper. *Angew. Bot.* **25**: 313-323.

Köhler E. et Hauschild I. (1947).—Betrachtungen und Versuche zum Problem des erworbenen Immunität gegen Virus-infektion bei Pflanzen. *Der Züchter* **17/18**: 97 (dans Sorauer P. *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*. Band II, Lieferung 1, «*Viruskrankheiten*» par Köhler C. et Klinkowski M., p. 105, 1954).

Kunkel L. O. (1939). — Movement of Tobacco-Mosaic virus in Tomato Plants. *Phytopath.* **29**: 684-700.

Lardy H. A. (1950).— Respiratory Enzymes. Burgess Publish. Co. Minn. p. 172.

Limasset P. (1944).— Sur un effet de renforcement réciproque de l'action de deux virus dans une maladie complexe du Tabac et de la Tomate. *Académie d'Agric. de France.* Extrait du procés verbal de la Séance du 22 Nov. 1944.

Limasset P. et Augier de Montgrémier H. (1946).— Sur une maladie à virus provoquant des déformations foliaires remarquables chez le Tabac et la Tomate. *Ann. Epiphyties*, **12**: 181-202.

Limasset P. et Augier de Montgrémier H. (1947a).— La microméthode sérologique pour l'étude des viroges végétales. *Ann. Epiphyties*, **13**: 173-185.

Limasset P. et Augier de Montgrémier H. (1947b). — Sur une méthode de dosage des virus des plantes. *C. R. Ac. Sci.* **225**: 1176-1177.

Limasset P. et Augier de Montgrémier H. (1948) — Application de la microséroréaction de Jermoljev et Hruska, au dosage des virus des plantes. *Ann. Inst. Pasteur*, **74**: 251-252.

Martin C. (1954).— Recherches sur les maladies à virus du Dahlia. *Ann. Epiphyties*, Serie III, **5**: 63-78.

Martin L. F., Balls A. K., et McKinney H. H. (1938).—The protein content of Mosaic Tobacco. *Science*, **87**: 329-330.

Martin L. F., Balls A. K., et McKinney H. H. (1939). — Protein changes in Mosaic diseased tobacco. *Jour. Biol. Chem.* **130**: 687-701.

McKinney H. H. (1941). — Virus antagonism tests and their limitations for establishing relationship between mutants and non-relationship between distinct viruses. *Amer. Jour. Bot.* **28**: 770-778.

McWhorter F. P. (1938).— The antithetic virus theory of tulip-breaking. *Ann. Appl. Biol.* **25**: 254-270.

Meneghini M. et Delwiche C.C. (1951).— The multiplication of tobacco Mosaic virus in the host plant. *Jour. Biol. Chem.* **189**: 177-190.

Miller W. H. et Dawson C. R. (1941).— Factors influencing the catecholase activity and inactivation of tyrosinase. The effect of gelatin and of catechol concentration. *Jour. Amer. Chemic. Soc.* **63**: 3368-3374.

Morel G. et Démétriadès S. (1955).— Action des régulateurs de croissance sur l'activité oxydasique de tissus de Topinambour. *Ann. Biol.* **31**: 427-436.

Onslow M. W. (1920). — Oxidizing Enzymes. II. The nature of the enzymes associated with certain direct oxidizing systems in plants. *Biochem. Jour.* **14**: 535-540.

Onslow M. W. (1921).— Oxidizing Enzymes. IV. The distribution of oxidizing enzymes among the higher plants. *Biochem. Jour.* **15**: 107-112.

Onslow M. W. (1931). — The principles of plant biochemistry. Part I. Cambridge Univ. Press.

Paine S. G. et Bewley W. F. (1919).— Studies in bacteriosis. IV. Strippe disease of tomato. *Ann Appl. Biol.* **6**: 183-203.

Panos N. (1948).— Contribution à l' étude de l'expansion de quelques virus inoculables mécaniquement chez la Tomate. *Ann. Epiphyties*, **14**: 297-314.

Pantanelli E. (1912).— Beiträge zur Kenntnis der Roncetkrankheit oder Krautern der Rebe. *Zeit. f. Pflanzenkrank.* **22**: 1-38.

Pavillard J. (1953). — Contribution à l'étude de la croissance des plantes virosées : Virus et auxines. *Thèse sc.* Paris.

Pirie N. W. (1950). — The isolation from normal tobacco leaves of nucleoprotein with some similarity to plant viruses. *Biochem. Jour.* **47**: 614-625.

Poppe K. et Busch G. (1931).— Fermentstudien am Virus der Maul und Klauenseuche. *Zentralblatt f. Bakteriologie*, I Abt. **119**: 398-406.

Powers W. H., Stanley L., et Dawson C. R. (1944).—The preparation and properties of highly purified ascorbic acid oxidase *Jour. Gen. Physiol.* **27**: 167.

Price W. C. (1940).— Acquired immunity from plant virus diseases. *Quart. Rev. Biol.* **15**: 338-361.

Purdy H. A. (1928). — Multiplication of the virus of Tobacco Mosaic in detached leaves. *Amer. Jour. Bot.* **15**: 94-99.

Rochow W. F. et Ross A. F. (1954 a).— Virus multiplication in plants doubly infected by potato viruses X and Y. *Virology*, **1**: 10-27

Rochow W. F. et Ross A. F. (1954 b).— Relative concentration of potato virus X in double and single infections. *Phytopath.* (Abstr.) **44**: 504.

Ross A. F. (1941).—The concentration of alfalfa-mosaic virus in tobacco plants at different periods of time after inoculation. *Phytopath.* **31**: 410 420.

Ross A. F. (1950).—Local lesion formation and virus production following simultaneous inoculation with potato viruses X and Y. *Phytopath.* (Abstr.) **40**: 24.

Ross A. F., Rochow W. F., et Siegel B. M. (1952). — High concentrations of virus X in plants doubly infected with potato viruses X and Y. *Phytopath.* (Abstr.) **42**: 473.

Samuel G. (1934).— The movement of Tobacco-Mosaic virus within the plant. *Ann. Appl. Biol.* **21**: 90-111.

Sizer I. W. (1953).— Oxidation of protein by tyrosinase and peroxidase. *Enzymol.* **14**: 129-161.

Smith K. M. (1945).— Transmission by insects of a plant virus complex. *Nature*, **155**: 174.

Spencer E. L. (1941). — Inhibition of increase and activity of Tobacco mosaic virus under nitrogen-deficient conditions *Plant Physiol.* **16**: 227-239.

Stanley W. M (1937).— Chemical studies on the virus of tobacco mosaic. X. The activity and yield of the virus protein from plants disea-ed for different periods of time. *Jour. Biol. Chem.* **121**: 205-217.

Stapp C. et Marcus O. (1943).— Serologische Untersuchungen am Tabak über Ausbreitung und Verteilung an 3 Kartoffelviren X, A und Y *Zentralblatt f. Bakt. Parasitenkunde*, **105**: 369 (dans Sorauer P. «*Handbuch der Pflanzenkrank-*

heiten». Band II. Lieferung I. «*Viruskrankheiten*» par Köhler E. et Klinkowski M., p. 107, 1954).

STEERE R. L. (1952).— Virus increment curves obtained from counts of particles in clarified plant juice. *Amer. Jour. Bot.* 39: 211-220.

STOTZ E., HARRER C. J., et KING C. G. (1937).— A study of «ascorbic acid oxidase» in relation to copper. *Jour. Biol. Chem.* **119**: 511-522.

SUMNER J. B. et GJESSING E. C. (1943). — A Method for the Determination of Peroxidase activity. *Arch. Biochem.* **2**: 291.

SUMNER J. B. et SOMERS G. F. (1953). — Chemistry and Methods of Enzymes. Academic Press, New York.

SUZUKI U. (1902).—Observation on the Mulberry Dwarf troubles (Schrumpkrankheit), a disease widely spread in Japan. *Bull. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo*, **4**: 359-360.

SZENT-GYÖRGYI A. (1931).— On the function of hexuronic acid in the respiration of the cabbage leaf. *Jour. Biol. Chem.* **90**: 385-393.

TAKAHASHI W. N. (1941).— Changes in Nitrogen and virus content of detached Tobacco leaves in darkness. *Phytopath.* **31**: 1117-1122.

TAUBER H., KLEINER I. S. et MISHKIND D. (1935).— Ascorbic acid (Vitamin C) oxidase. *Jour. Biol. Chem.* **110**: 211-218.

UMBREIT W. W., BURRIS R. H. et STAUFFER J. F. (1951). — Manometric Techniques and Tissue Metabolism. Minneapolis.

VANTERPOOL T. C. (1926).— Streak or winter blight of tomato in Quebec. *Phytopath.* **16**: 311-331.

WAYGOOD E. R. (1950).— Physiological and biochemical studies in plant metabolism. II. Respiratory enzymes in wheat. *Canadian Jour. Res.* **28**: 7-62.

WILDMAN S. G. et BONNER J. (1950).— The proteins of greenleaves. IV. Chemical and physical evidence that tobacco mosaic virus is derived from a main nucleoprotein component of tobacco leaf cytoplasm. *Phytopath.* (Abstr.) **40**: 31-32.

WILDMAN S. G., CHEO C. C., et BONNER J. (1949).—The protein of green leaves. III. Evidence of the formation of tobacco mosaic virus protein at the expence of a main protein component in tomato leaf cytoplasm. *Jour. Biol. Chem.* **180**: 985-1001.

WOODS A. F. (1899).— The destruction of Chlorophyll by oxidizing Enzymes. *Centralbl. f. Bakt. Parasitenkunde*, Zweite Abteilung, **5**: 745-754.

WOODS A. F. (1900).—Inhibiting action of oxidase upon diastase. *Science*, **11**: 17-19.

WOODS A. F. (1902).— Observations on the Mosaic disease of Tobacco. *U. S. Departm. Agr. Bur. Plant Ind. Bull.* **18**: 1-24.

WOODS M. W. (1940). — Reversible inhibition of tobacco mosaic virus in living cells with 0,002 molar sodium cyanide. *Science*, **91**: 295-296.

WOODS M. W. (1943). — Effect of Cyanide on Synthesis of Ringspot and Mosaic viruses in Tobacco. *Phytopath.* **33**: 77-80.

WOODS M. W. et DUBUY H. G. (1941).— The influence of Tobacco-mosaic virus on cellular oxidation. *Phytopath.* (Abstr.) **31**: 25.

WOODS M. W. et DUBUY H. G. (1942).— The effect of Tobacco-mosaic virus on cellular respiration. *Phytopath.* **32**: 288-312.

Wynd F. L. (1942).— Certain enzymatic activities of normal and mosaic infected tobacco plants. *Jour. Gen. Physiol.* **25** : 649 - 661.

Zachos D. (1954).— Sur un phénomène d'interférence entre le virus de la Mosaïque du Tabac et le virus X de la Pomme de terre, dans le cas d' une maladie complexe de la Tomate (Streak). *C. R. Ac. Sci.* **238** : 269 - 270.

Zachos D. (1955 a).— Relation entre l'activité de certains systèmes oxydasiques et la multiplication, chez la Tomate, du virus X de la Pomme de terre et du virus de la Mosaïque du Tabac. *C. R. Ac. Sci.* **240**: 2086 - 2088.

Zachos D.G. (1955 b).— Évaluation du pouvoir infectieux du virus X de la Pomme de terre et du virus de la Mosaïque du Tabac par la méthode des lésions locales. *Ann. Epiphyties*, Série III, **6**: 61 - 88.

Imprimerie HESTIA